SÉRIE A, N° 4479
N° D'ORDRE :
5327

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

Jacqueline LOEPER

1re **THÈSE** — « RECHERCHES SUR LE SILICIUM DANS LES TISSUS ANIMAUX. SON ÉTUDE AU NIVEAU DE L'AORTE AU COURS DE L'ATHÉROMATOSE ».

2e **THÈSE** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ : « FACTEUR CLARIFIANT ».

Soutenues le 2 juin 1965 **devant la Commission d'examen**

M. A. MONNIER ..... *Président.*

Mlles E. LE BRETON .... } *Examinateurs.*
C. VEIL ..... }

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546824_0069

Série A, n° 4479
N° d'ordre :
5327

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

Jacqueline LOEPER

1re THÈSE — « Recherches sur le silicium dans les tissus animaux. Son étude au niveau de l'aorte au cours de l'athéromatose ».

2e THÈSE — Propositions données par la Faculté : « Facteur clarifiant ».

Soutenues le **devant la Commission d'examen**

M. A. MONNIER ..... *Président.*

Mlles E. LE BRETON .... } *Examinateurs.*
C. VEIL ..... }

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen : M. ZAMANSKY

BRELOT	T	Analyse supérieure.
PRENANT	T	Anatomie et histologie comparée.
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés.
PREVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralo et cristallo.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biol. végét. (Orsay).
AUGER	T	Physique quantique et relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique E.N.S.
CARTAN	T	Mathématiques E.N.S.
LAFFITE	T	Chimie générale.
N...	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du globe.
COUSIN (Mlle)	T	Biologie animale S.P.C.N.
CHRETIEN	T	Chimie minérale.
BOCQUET	T	Zoologie.
KASLIER	T	Physique E.N.S.
EPHRUSSI	T	Génétique.
RIVIERE	T	Géologie S.P.C.N. et sédiment (Orsay).
GAUTHERET	T	Biologie végétale P.C.B.
LUCAS (R.)	T	Recherches physiques.
THOMAS (A.)	T	Biologie cellulaire.
ARNULF	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique enseignement.
SOLEILLET	T	Physique P.C.B.
FORTIER	T	Mécan. exp. des fluides.
DRACH	T	Zoologie.
QUENEY	T	Météo et dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biologie végétale S.P.C.N.
CAUCHOIS (Mlle)	T	Chimie physique.
THELLIER	T	Physique du globe.
L'HERITIER	T	Biologie gén. (Orsay).
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).
PONCIN	T	Mécanique générale.
DU BREIL	T	Arith. et théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromolécul.
TUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Géologie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffract. élect.
WIEMAN	T	Chimie org. et structur.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay).
VASSY	T	Physique de l'atmosph.
DESTOUCHES	T	Théorie physique.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéral. et cristal.
MATHIEU (J.-P.)	T	Physique optique.
COUTEAUX	T	Cytologie.
MAY	T	Zoologie.
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et topologie.
FELDMANN	T	Biologie végét. marine.
GUINIER	T	Phys. des solides (Orsay).
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathémat.
SCHWARTZ	T	Calcul dif. et intégral.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (techn. aéron.).
NORMANT	T	Synthèse organique.
BENARD	T	Chimie minérale.
BUVAT	T	Botanique E.N.S.
DUGUE	T	Statistique mathémat.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiol. végét. appl.
MARECHAL	T	Optique théol. et appl.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
LE BRETON (Mlle)	T	Physiol. de la nutrit.
LELONG	T	Appl. de l'ana. à la géom.
DEVILLERS	T	Anatomie et histol. comp.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANCON	T	Physique S.P.C.N.
GLANGEAUD	T	Géograph. phys. et géol.
DODEMENT	T	Mathématiques M.G.P.
PISOT	T	Techn. math. de la phys.
ROCH	T	Géologie.
SCHATZMANN	T	Astrophysique. Géologie générale.
ZAMANSKY	T	Mathématiques gén.
LENNUIER	T	Physique M.G.P.
RIZET	T	Génétique (Orsay).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
TONNELAT (Mme)	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques M.P.C.
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Electrochen. gén.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
LEVY (M.)	T	Physique théorique des hautes énerg. (Orsay).
CHAIX (Mme)	T	Chimie biologique.
HUREL PY (Mme)	T	Biologie végét. P.C.B.
PANNETIER	T	Chimie générale.
BRUN	T	Mécan. des fluides I.
LEDERER	T	Chimie biol. (Orsay).
DUBREIL (Mme)	T	Mathémath. (agrégat.).
LELONG (Mme)	T	Math. II E.N.S.
BELLAIR	T	Géologie S.P.C.N.
COTTE	T	Physique électricité.
DUBOIS (J.-E.)	T	Chimie organique.
LAMOTTE	T	Zoologie E.N.S.
MICHEL (A.)	T	Chimie min. (Orsay).
OLMER	T	Energétique générale.
ROUAULT	T	Electricité (Orsay).
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.
BROSSEL	T	Physique atomique.
BUSER	T	Physiologie comparée.
CAMUS	T	Physiologie végétale.
CASTAING	T	Phys. II thermo (Orsay).
CURIEN	T	Minéral. et cristal.
MOYSE	T	Physiol. végét. (Orsay).
CHARNIAUX (Mme) COTTON	T	Evolution des êtres organisés.
POSSOMPES	T	Zoologie.
PULLMANN	T	Chimie quantique.
TIELLAC	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
TONNELAT	T	Biol. physico-chin. (Orsay).
VILLE	T	Econométrie.
WILLEMART	T	Chimie P.C.B.
DODE	T	Chimie (Orsay).
FREYMANN	T	Recherches physiques.
GUINOCHET	T	Biologie végétale S.P.C.N. (Orsay).
ROLLET	T	Chimie minérale.
JOSIEN (Mlle)	T	Chimie S.P.C.N.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.
ARNOULT	T	Electronique (Orsay).
CHAPELLE	T	Physique I (Orsay).
DELANGE	T	Mathématiques I (Orsay).
DENY	T	Math. gén. (Orsay).
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides.
LUCAS	T	Géologie.
ALLARD	T	Chimie physique.

BERTHELOT	T	Physique des particules fondament. (Orsay).
BRICARD	T	Météor. et phys. de l'at.
ALBE FESSARD (Mme)	T	Psycho-physiologie.
FRIEDEL	T	Phys. des solides (Orsay).
JULIA (M.)	T	Etudes des moléculaires complexes.
LENDER	T	Biologie animale S.P.C.N. (Orsay).
MAGAT	T	Physico-chimie des radio-éléments.
QUINTIN (Mlle)	T	Electrochimie.
MONOD	T	Chimie du métabolisme.
BENOIT	T	Physiol. anim. (Orsay).
DE POSEEL	T	Analyse numérique.
CHARLOT	T	Chimie analytique.
LEMEE	T	Ecologie végét. (Orsay).
GUERIN	T	Chimie M.P.C. (Orsay).
CHATELET	T	Chimie P.C.B.
JEAN	T	Physiol. nucl. (Orsay).
MATTLER	T	Physique S.P.C.N.
BERGERARD	T	Zoologie (Orsay).
BERTEIN	T	Electronique (Orsay).
BOUISSIERES	T	Radiochimie.
COUTURE (Mme)	T	Thermo et méca phys.
ELLEMBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe (Orsay).
FRANC	T	Biologie animale P.C.B.
SCHNELL		Botanique tropicale.
STLKOWSKI	T	Physiologie végétale.
ACHER	T	Chimie biologique.
BAUDOIN	T	Biologie animale P.C.B.
BEAUMONT		Biologie animale S.P.C.N.
BLAMONT		Géophysique ionosphère.
BOUREAU	T	Botanique.
CURIE (D.)		Physique M.G.P.
DURAND DELGA	T	Géologie.
FREON	T	Chimie organ. (Orsay).
HELLER	T	Physiologie végétale.
TORTRAT	T	Calcul des probabilités.
CAILIEUX	T	Géologie S.P.C.N.
MAGNAN		Physique électricité.
DAUDEL	T	Mécan. ondulatoire appl. à la chimie théor. et à la physique nucléaire.
FOURCROY (Mlle)	T	Biologie végétale S.P.C.N.
CHOQUET BRUAT (Mme)	T	Mécanique analytique et mécanique céleste.
VEIL (Mlle)	T	Physiologie générale.
LWOFF	T	Microbiologie.
SIESTRUNCK	T	Mécan. phys. et expér.
LACOMBE	T	Métallurgie des métaux nucléaires (Orsay).
BROCHARD	T	Physique P.C.B. (Orsay).
CABANNES	T	Mécanique générale.
LESIEUR	T	Math. I (Orsay).
MAZET	T	Mécan. gén. (Orsay).
CAIRE		Géog. phys. et géog. dyn.
COMOLET		Mécanique des fluides.
CORABŒUF	T	Physique anim. (Orsay).
DELLOUE	T	Physique de l'exosphère.
GORENFLOT		Botanique II (Orsay).
HOUILLON		Biologie animale P.C.B.
JULLIEN (J.)		Chimie S.P.C.N. (Orsay).
MALGRANGE	T	Techn. math. de la phys. (Orsay).
OLIVIER		Antropologie.
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay).
BLANC-LAPIERRE	(T	Physique E.N.S. (Orsay).
CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay).
KAHANE	T	Mathématique (Orsay).
SAMUEL	T	Math. E.N.S. féminines.
KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay).
THIRY	T	Mécanique céleste.
ABELES		Physique S.P.C.N.
AMAT	T	Physique P.C.B.
AUBOIN	T	Géologie.
BENOIT-GUEUTAL (Mme)	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
BOUGIS		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer).
BRUHAT	T	Math. M.P.C.
BRUNN	T	Géologie histor. (Orsay).
CHABBAL	T	Physique M.G.P. (Orsay).
DEHEUVELS	T	Math. propé.
D'ESPAGNAT	T	Phys. théor. (Orsay).
FURON	T	Géologie S.P.C.N.
GANS (Mme)	T	Génétique.
GENEVES		Biologie végét. (P.C.B.).
GUILBER		Phys. C.U.S. (Orléans).
HUPE	T	Pétrographie.
HOLLANDE	T	Biol. générale.
LIONS	T	Analyse numérique.
HAITTE	T	Chimie P.C.B.
MEYER		Physique propé.
NICOLAS		Géologie appliquée.
PANIGEL		Biologie générale.
RAVIER		Pétrographie.
ROSEAU	T	Mécan. théor. des fluides.
ROUBINE		Electronique.
SILBER	T	Chimie P.C.B.
UEBERSFELD	T	Electronique.
YVON	T	Théories physiques.
HERVE	T	Mathématiques.
NERON	T	Math. M.P.C. (Orsay).
PECKER WIMEL (Mme)	T	Astrophysique.
BALKANSKY		Physique M.P.C.
LE CORRE	T	Electricité.
DELCROIX	T	Phys. théor. (Orsay).
GOURDIN		Phys. théor. des hautes énergies (Orsay).
LEHMANN	T	Phys. exp. des hautes énergies.
NATAF	T	Phys. nucl. et radio-activité (Orsay).
ECHALIER		Biologie animale P.C.B.
BARRAUD		Physiol. cellulaire.
LIORET		Physiol. végét. (Orsay).
DARS		Géologie structurale et géol. appl.
CAMEFORT	T	Botanique (agrégation).
VICHNIEWSKY	T	Mécanique industrielle.
BLAQUIERE		Electronique (Orsay).
ARNOUS	T	Physique théorique.
TATIBOUET		Chimie (C.S.U. Orléans).
MALLARIN	T	Math. propé. (Orsay).
GAUDEMAR		Chimie propé.
PEREZ Y JORBA		Phys. exp. des hautes énergies (Orsay).
DAVID	T	Chimie (agrégat. Orsay).
BROUSSE	T	Mécanique théorique.
ROSCH	T	Astronomie.
GUY	T	Physique expérimentale.
LAZARD		Math. M.P.C.
MOREL (Pierre)		Physique M.P.C.
ARSAC		Programmation.
LEFEBVRE		Chimie M.P.C.
CHAPEVILLE		Biochimie.
BENOIT		Physique C.P.E.M.
JAUZEIN		Chimie C.P.E.M.
PREVOST (G.)		Géologie E.N.S.
FAVARD (P.)		B.V. C.P.E.M.
VILKAS		B.A. C.P.E.M.
FICINI (Mlle)		Chimie C.P.E.M.
LEQUEUX		Chimie C.P.E.M.
COHEN TANNOUDJI		Astronomie.
TAVERNIER		Physique C.P.E.M.
ROIZEN (Mme)		Physique C.P.E.M.
DURAND (M.)		B.A. P.S.C.N.
PASCAUD		Physiologie.
PETIT (Mme)		B.A. C.P.E.N.
BROUSSE		Géologie (Orsay).
CAGNIAC		Physique agrégat Orsay.
LÉBERRE		Zoologie (Orsay).
SCHEFFER		Microbiologie (Orsay).
DE GENNES		Phys. des solides (Orsay).
RIOU		Phys. nucl. exp. (Orsay).
CLAUSER		Chimie biol. (Orsay).
CHEVALIER		Physiol. anim. (Orsay).
JANCOVICI		Phys. atom. (Orsay).
FALK-VAIRANT		Phys. nucl. (Orsay).
FETIZON		Chimie propé. (Orsay).
CERF		Mathématiques (Orsay).

Le secrétaire général
R. POULAIN.

AVANT-PROPOS

Je tiens à dire à M. le Professeur MONNIER combien je lui suis reconnaissante de l'honneur qu'il me fait de présider cette thèse. Je remercie très sincèrement Mlle le Professeur LE BRETON, qui a bien voulu assumer la direction de ce travail et m'a consacré beaucoup de son précieux temps ; je lui exprime ma profonde gratitude pour la bienveillance dont elle a fait preuve à mon égard.

J'associe à mes remerciements Mlle le Professeur VEIL, qui a accepté de faire partie de mon jury.

Je voudrais dire à M. le Professeur LEMAIRE combien je lui sais gré de m'avoir permis de poursuivre cette thèse dans son laboratoire ; qu'il trouve ici l'expression de mes sentiments de très fidèle affection et de respectueux attachement.

Je n'oublie pas mon frère, le Professeur Jacques LOEPER, sans lequel ce laborieux travail n'aurait pas abouti et qui, en m'aidant dans tous les domaines, m'a apporté un soutien précieux.

J'exprime aussi toute ma reconnaissance à M. le Professeur TRÉMOLIÈRES, qui m'a utilement guidée au début de ce travail et au cours de sa réalisation.

Je dédie cette thèse à la mémoire de mes Parents et particulièrement de mon Père, le Professeur Maurice LOEPER, qui avait eu, le premier, l'idée du rôle joué par le silicium dans la maladie athéroscléreuse et avait orienté ces recherches.

PLAN

Introduction.

Chapitre I : Les propriétés du silicium, le silicium en biologie.

Chapitre II : Le dosage du silicium ; techniques utilisées pour le silicium, le potassium et le calcium.

Chapitre III : Données personnelles sur les teneurs en silicium de quelques organes ou tissus chez le rat, le lapin et l'homme.

Chapitre IV : Influence de l'âge et du sexe sur les teneurs en silicium du tissu aortique chez l'homme. Modifications observées lors de lésions athéromateuses.

Chapitre V : Examen de l'influence de quelques facteurs sur les teneurs en silicium du tissu aortique du rat et du lapin.

Chapitre VI : Variations du silicium aortique du lapin au cours de l'athérome expérimental. Influence du silicate de sodium et du silicate de lysine en injections.

Chapitre VII : Localisation du silicium au niveau de l'aorte.

Discussion et conclusions générales.

Résumé.

RECHERCHES SUR LE SILICIUM DANS LES TISSUS ANIMAUX

SON ÉTUDE AU NIVEAU DE L'AORTE AU COURS DE L'ATHÉROMATOSE

INTRODUCTION

Le rôle du silicium dans les organismes animaux, en dépit de quelques travaux intéressants déjà anciens, reste mal élucidé ; mais dans les publications, un certain nombre d'observations suggère qu'il pourrait intervenir dans l'hydratation des tissus et les phénomènes de vieillissement.

Nous nous sommes proposé dans ce travail d'étudier la répartition de cet élément dans les tissus de quelques espèces animales, dont l'homme, et d'examiner spécialement le cas de l'aorte.

L'idée de consacrer des recherches au silicium des vaisseaux — notamment de l'aorte — a son origine dans quelques expériences que nous avons faites sur des athéromes. On sait désormais que les lésions de la paroi des vaisseaux, caractéristiques de l'athérome, ne sont pas directement en rapport avec le métabolisme des lipides circulants et que les augmentations constatées chez les athéromateux de certains lipides ou lipoprotéines sériques ne sauraient être considérées comme le seul phénomène déterminant la lésion et son évolution.

Il est certain que parmi les symptômes de l'athéromatose, la présence de certains lipides au niveau des lésions et leur métabolisme modifié, peuvent être retenus ; mais à l'heure actuelle, l'opinion semble s'orienter vers des phénomènes déterminants plus complexes, aboutissant à une diminution de l'élasticité des parois de l'artère, à une modification de leur perméabilité, favorisant le dépôt des substances nocives.

Ayant constaté une diminution de la teneur en silicium d'aortes athéromateuses par rapport à des aortes normales, nous avons pensé que cet élément pouvait jouer un rôle important dans la paroi artérielle, rôle reposant en partie sur son intervention dans l'hydratation des macromolécules protéiques signalée par plusieurs biologistes.

Si Von Gorup Besanez, en 1848, le premier, trouva du silicium dans les cendres des animaux et des végétaux, ce fut Schulz, en 1901, qui en signala la présence dans le tissu conjonctif ; Willstatter montrait, il y a vingt ans, que les solutions diluées d'acide silicique de faible poids moléculaire étaient stables et capables de diffuser rapidement à travers les membranes animales et végétales ; il ajoutait que les solutions plus concentrées contenant des polyacides siliciques colloïdaux pouvaient agir sur les protéines et qu'enfin, les formes analogues aux poussières de quartz très condensées faisaient « dégénérer » les protéines en fibres scléreuses. L'acide silicique a une tendance à se polymériser et une polymérisation trop poussée conduit à des produits nocifs.

Fischer émet les mêmes idées et soutient que les systèmes siliciques colloïdaux seraient capables de solubiliser les lipides et de jouer un rôle dans l'athérome grâce à leur action stabilisante sur l'hydratation protéique ; alors que les acides, en général, diminuent le pouvoir de liaison de l'eau avec les protéines, le silicium le maintiendrait.

Maier et Kochmann montraient que l'élasticité de la peau de la souris blanche est améliorée par immersion dans des solutions d'acide silicique ou par injection sous-cutanée de ces solutions ; il se produit des phénomènes de gonflement des protéines ; ces auteurs auraient également vu que les cellules rénales altérées de rats atteints d'athérome expérimental, retrouvent leur intégrité et leur hydratation normale par injection d'acide silicique.

Scholl et Letters mettent eux aussi en lumière l'action physiologique favorable du silicium, qui améliore la viscosité, la capacité de gonflement et de fixation d'eau des protéines ; pour eux, le silicium s'opposerait donc au processus naturel du vieillissement qui est caractérisé spécialement par une diminution de la fixation d'eau par les albumines plasmatiques, une perte de la perméabilité et de l'élasticité des artères, un durcissement et une diminution du volume de certaines cellules, une intoxication des tissus.

Pour plusieurs de ces auteurs, le silicium exerce par conséquent un effet bénéfique sur les organismes en cours de vieillissement, mais selon certains, sur des organismes jeunes suffisamment riches en silicium, une surcharge peut avoir des effets nocifs et amener des troubles du système nerveux.

Quelques auteurs avec Joellen et Klosterkotter pensent que l'acide silicique n'a qu'une action faible, mais qu'il se

polymérise dans l'organisme en acide polysilicique plus actif.

Il est intéressant de citer une opinion de Butenandt qui estime que l'acide silicique est capable de permettre, ou tout au moins de favoriser, la formation de polypeptides de haut poids moléculaire à partir d'acides aminés ; il se fixerait momentanément sur l'azote des groupes aminés, puis serait libéré après formation des chaînes polypeptidiques ; c'est ainsi que dans la mer, la présence d'acide silicique faciliterait la polymérisation d'acides aminés dissous pour former la carapace protéo-silicique de certaines algues ou animaux marins d'espèces inférieures.

Il ressort de cet ensemble d'opinions et d'observations que le silicium aurait un rôle physiologique souvent favorable quel que soit le mécanisme selon lequel il agit, mécanisme qui reste actuellement hypothétique.

Tenant compte de ces publications et ayant remarqué dès nos premières investigations, comme nous l'avons dit plus haut, une diminution considérable de la teneur en silicium des tissus âgés, en particulier de l'aorte, nous avons été amenés à envisager divers facteurs de variation de cette teneur, tels que l'âge, le sexe, les lésions athéromateuses, chez l'homme et chez l'animal. Ayant provoqué chez le lapin l'athérome expérimental par un régime riche en cholestérol ou par injection d'adrénaline, nous avons étudié l'action du silicium administré sous diverses formes dans la prévention ou l'atténuation des premiers stades de cette maladie.

Le silicium paraissant être un facteur important dans le maintien des qualités physiologiques des artères, nous avons ensuite recherché s'il était lié au tissu élastique ou à d'autres éléments du tissu conjonctif comme le collagène ou les mucopolysaccharides. En ayant trouvé des quantités appréciables sur l'élastine et sur les mucopolysaccharides, nous avons fractionné par chromatographie sur colonnes ces mycopolysaccharides pour voir si une fraction s'avérait particulièrement riche en cet élément. Nous pensons qu'une réponse à ces questions pourrait peut-être permettre de préciser les liaisons chimiques du silicium avec certains constituants tissulaires.

Nous exposerons brièvement les faits principaux concernant la chimie du silicium, sa répartition et son rôle chez les végétaux.

Nous rappellerons également les résultats peu nombreux concernant les tissus animaux. Puis ayant décrit la méthode de dosage que nous avons utilisée, en justifiant son choix, nous exposerons les résultats auxquels nos expériences ont abouti.

Dès l'abord, il nous faut insister sur les difficultés que rencontre, dans la plupart des cas, une estimation précise de ce métalloïde, expliquant des résultats parfois dispersés.

Nous pensons néanmoins que l'intérêt des problèmes soulevés justifie que nous ayons consacré des recherches longues et laborieuses au silicium chez l'homme et l'animal ; nous considérons ce travail comme une étape dans la connaissance du rôle physiologique qu'il assume.

CHAPITRE I

Les propriétés du silicium

Le silicium en biologie

Dans ce chapitre, nous exposerons rapidement l'essentiel de la chimie du silicium et des données existant sur sa présence et son rôle chez les végétaux et les animaux.

I. — CHIMIE DU SILICIUM

LE SILICIUM.

Le silicium, dont LAVOISIER avait déjà soupçonné l'existence en 1787, a été isolé pour la première fois par BERZELIUS en 1822, par action de l'aluminium sur le fluosilicate de potassium ; mais, bien avant son identification, on connaissait la présence de la silice sans toutefois pouvoir en préciser la formule.

Le silicium se rattache au groupe IV b de la classification périodique des éléments, où il figure aux côtés du carbone, du germanium, de l'étain et du plomb.

C'est un métalloïde amphotère de masse atomique 28,086 ; son caractère est plutôt électro-négatif et il a tendance à compléter sa couche externe d'électrons au nombre de 8, et dans ce cas sa valence maximum est 4 (PASCAL).

Il est en effet la plupart du temps tétravalent, mais la fixation de cette valence a donné lieu à de nombreuses discussions : BERZELIUS, en 1824, pensant à l'analogie entre la silice et l'anhydride sulfurique proposait comme formule de la silice SiO_3 ; d'autres, comme BARLOW et POPE, pensaient aussi que le carbone était seul à posséder la valence 4 et que Si était bivalent.

J.-B. DUMAS fut amené à proposer la formule SiO, KOPP la formule Si_2O_3.

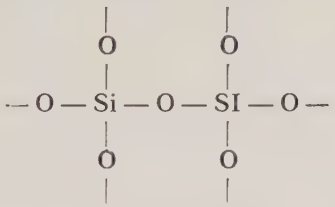
La formule SiO_2 ne fut définitivement adoptée qu'à la suite des travaux de MARIGNAC et de FRIEDEL qui appuyèrent leur conclusion sur l'étude des composés hydrogénés du silicium.

Actuellement, il est admis que le silicium a pour poids atomique 28,086 et pour valence 4 ; c'est un métalloïde gris acier, fragile, dont le point de fusion est 1 420°, le point d'ébullition 2 600°, et la densité 2,42 ; il n'existe jamais à l'état natif ; on peut l'obtenir soit par réduction de ses dérivés halogénés par les métaux à température convenable, soit en réduisant la silice par le magnésium ou l'aluminium, ou encore par le carbone au four électrique ; tous ces procédés donnent un produit très pulvérulent, mais il existe

des techniques permettant d'obtenir du silicium cristallisé octaédrique ; le silicium colloïdal est obtenu par précipitation dans des solutions alcalines ou acides.

Le silicium se combine avec l'hydrogène pour former des hydrures de silicium ou « silanes » de formule $Si(n)H(2n + 2)$, dont les termes connus vont de $n = 1$ à $n = 6$; ces combinaisons sont obtenues par les méthodes générales de préparation des carbures d'hydrogène, mais leur stabilité est moins grande ; ils donnent des dérivés halogénés, tels que SiH_3Cl, chlorure de silyle analogue au chlorure de méthyle, $SiHCl_3$, silicochloroforme, et $SiCl_4$ tétrachlorure de silicium (Pascal).

Avec l'étude de l'oxyde de silicium, ou silice, apparaît la différence entre le carbone et le silicium ; les atomes de carbone et de silicium possèdent chacun 4 électrons périphériques, leur physionomie chimique est, *a priori*, voisine, mais tandis que le carbone peut échanger avec l'oxygène des doubles liaisons comme dans $O = C = O$, le silicium ne se comporte pas de même, chaque atome de silicium est lié à 4 atomes d'oxygène, l'un de ceux-ci étant lié à 2 atomes de silicium suivant le schéma :



L'enveloppe externe de l'atome de silicium présente donc 8 électrons, et chaque atome d'oxygène peut, lui, soit s'unir à un autre atome de silicium, soit s'unir à un atome métallique ; les variétés *d'enchaînement* sont *nombreuses* et c'est cette structure de base que l'on rencontre dans les différents silicates ; on peut y trouver des molécules courtes et des molécules géantes ayant des motifs et des structures variés, qui entraînent des propriétés déterminées (Pauling).

LA SILICE.

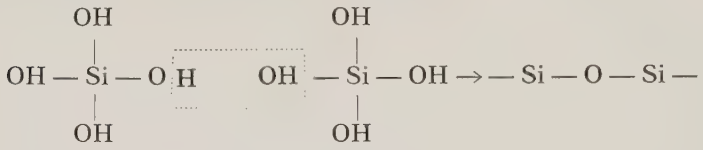
Le mono-oxyde de silicium SiO s'oxyde facilement pour donner de la silice SiO_2.

La silice existe sous de nombreuses formes ; elle est très répandue dans le monde minéral et représente, selon les calculs de Le Chatelier, plus de la moitié de la lithosphère.

a) *Formes cristallisées.*

Il existe des formes anhydres, cristallisées dans plusieurs systèmes : le système hexagonal dans le cas du quartz et de la tridymite, le système cubique dans le cas de la cristobalite ; la silice s'y trouve pratiquement à l'état pur, seuls le mode de cristallisation et la densité diffèrent ; il peut y avoir transformation réversible d'une forme cristalline à l'autre, suivant la température et la pression.

Le quartz peut être coloré, quartz rose ou fumé, fausse topaze, améthyste ; il est composé de molécules d'acide silicique SiO_4H_4 présentant des ponts Si-O-Si par condensation d'eau à l'intérieur des molécules :



Par calcination au rouge et condensation plus poussée, on obtient finalement la silice SiO_2 ; le quartz est très dur, et il est difficile de rompre les ponts oxygène-silicium.

b) *Formes amorphes.*

Il existe aussi des formes amorphes plus ou moins hydratées, c'est-à-dire possédant l'isotropie parfaite des fluides et les apparences mécaniques de l'état solide : ainsi le calcédoine, l'agathe, l'onyx, le jaspe, les opales contiennent de 1 à 5 % d'eau ; les diatomées, algues siliceuses, contiennent 88 % de silice et 10 % d'eau.

Toutes ces formes de la silice peuvent passer de l'une à l'autre par divers procédés : le quartz cristallisé peut se transformer en silice amorphe par fusion à des températures déterminées ; inversement, la silice amorphe plus ou moins hydratée donne par cristallisation, après fusion à des températures précises et différentes, diverses formes de silice anhydre cristallisée : quartz, cristobalite et tridymite. Les rayons X permettent la différenciation.

Les propriétés chimiques sont identiques pour toutes les variétés de silice, les vitesses de réaction augmentant avec l'état de division des produits, les formes les moins denses étant les plus attaquables.

La silice est peu soluble dans l'eau ; l'eau de mer en contient très peu ; la solubilité augmentant avec la pression,

certaines eaux des sources profondes en contiennent jusqu'à 0,6 g 0/00.

Le verre de silice est une forme rigide mais non cristallisée de silice obtenue en faisant refroidir de la silice fondue vers 1 500° ; il n'a plus les propriétés de la silice pure car ses atomes sont disposés d'une façon irrégulière comme dans un liquide.

c) *Silice colloïdale.*

Un traitement alcalin ou acide, en atmosphère humide, de silice cristallisée, pulvérisée, aboutit à la silice colloïdale, ou hydrosol de silice qui, par coagulation, produit des *gels* de silice plus ou moins riches en silice et que l'on peut rendre plus ou moins opaques avant d'aboutir aux formes anhydres.

En règle générale, la silice est insoluble dans les acides forts ; elle n'est dissociée, par voie chimique, que par la soude ou le carbonate de sodium.

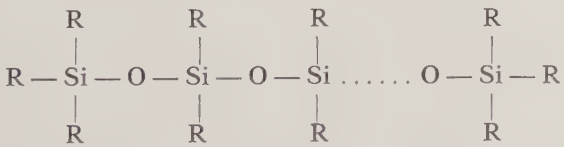
LES SILICATES.

Les silicates sont les sels d'acides siliciques mal définis ; ils sont insolubles dans l'eau sauf les silicates alcalins.

On peut distinguer les silicates naturels à structure tétraédrique comme les feldspaths, à structure lamellaire comme les micas, les argiles, l'amiante (où les molécules de silicates très longues peuvent se cliver), les verres formés d'aluminosilicate de sodium et de potassium, et les ciments à base de silicate d'aluminium.

LES SILICONES.

Il convient de citer enfin des produits organiques de grande importance industrielle utilisés pour leurs propriétés hydrofuges, leur viscosité ou leur élasticité, appelés silicones. Ce sont des produits extrêmement stables, de poids moléculaire plus ou moins élevé suivant leur degré de complexité. Leurs propriétés viennent de leur structure en chaînes susceptibles de s'anastomoser en réseaux :



Nous ne saurions davantage nous arrêter à cette chimie du silicium qui va sans cesse s'enrichissant.

II. — LE SILICIUM CHEZ LES VÉGÉTAUX

Avant d'aborder le problème du silicium chez les végétaux supérieurs, rappelons les expériences anciennes mais intéressantes de RAULIN, qui furent confirmées plus tard par JAVILLIER.

RAULIN étudiant les rendements de culture d'un Ascomycète, « l'Aspergillus Niger », fut étonné de voir que, en dehors des éléments strictement indispensables à la formation et à l'évolution de ce champignon que sont l'oxygène, le carbone, l'hydrogène, l'azote, le phosphore, le soufre, le potassium et le magnésium, et qu'il appelle « éléments plastiques », il existait des éléments qu'il nomma « catalytiques » ; ceux-ci, sans être nécessaires, pouvaient à doses très faibles, activer la croissance du champignon ; parmi ces éléments, il citait le silicium à côté du fer, du zinc, du cuivre.

En calculant les rapports du poids de récolte obtenue en milieu complet au poids de récolte obtenue dans ce même milieu après suppression d'un élément, il obtint des rapports de l'ordre de 153 pour l'ammoniaque, de 182 pour l'acide phosphorique, de 25 pour la potasse et de 1,4 pour le silicium.

Ces chiffres prouvent évidemment l'importance bien plus grande de l'azote et du phosphore vis-à-vis de celle du silicium ; mais en calculant ces rapports en tenant compte des quantités utilisées pour chaque élément, il détermina des « coefficients d'utilité spécifique » qui sont alors de 17 pour l'azote, de 64 pour le potassium, de 346 pour le soufre, de 857 pour le fer, de 320 pour le silicium ; ces coefficients montrent que les éléments plastiques, indispensables en grandes quantités, ont un coefficient d'utilité spécifique petit, alors que les éléments catalytiques ont un coefficient d'utilité spécifique élevé, étant donnée la présence utile d'une très faible dose.

Ces éléments indispensables aux végétaux inférieurs le sont aussi pour les végétaux supérieurs, mais il est hors de doute que le silicium n'est pas d'une impérieuse nécessité pour leur évolution ; sa présence et son rôle ont néanmoins été démontrés et nous allons maintenant résumer brièvement ce qui les concerne, après avoir dit quelques mots de la silice du sol.

SILICE DU SOL.

La silice est abondante dans le sol où elle peut se trouver sous forme de silicates complexes qui se dissolvent dans l'eau ou de silice plus ou moins libre ; MOLLIARD et SCHLOESING avaient montré que l'eau du sol peut contenir de 20 à 50 mg de silice par litre selon les régions ; elle existe parfois aussi à l'état de silice hydratée ou encore de quartz.

La silice serait capable de fixer certains des ions minéraux utiles à la nutrition de la plante, et pénétrerait tout spécialement dans la plante sous forme de silicates.

ABSORPTION ET ÉTAT DANS LA PLANTE.

Ainsi absorbée par la plante, elle y reste, soit sous des formes solubles ou colloïdales, circulantes ou cytoplasmiques, soit sous des formes insolubles.

Les formes cytoplasmiques ou circulantes, dissoutes dans la sève ou le suc vacuolaire, peuvent se combiner à d'autres corps, lipides, glucides ou protides ; c'est ainsi que dans les grains d'amidon par exemple, elles sont liées aux polysaccharides (SUN YUN TAO).

Les formes insolubles peuvent imprégner les membranes cuticulaires comme dans la paille des graminées, ou former des concrétions siliceuses comme chez les bambous où les tabaschirs peuvent peser plusieurs grammes et sont presque uniquement constitués de silice pure ; chez les éponges, les spicules contiennent 98 % de silice amorphe et la carapace des diatomées est presque uniquement constituée de silicate d'alumine ; cette silice insoluble peut provenir de la précipitation des formes solubles ou de la floculation des formes colloïdales ; elle n'a aucun rôle physiologique sinon celui de soutien et est extrêmement résistante aux agents chimiques.

Les formes assimilables de la silice varient selon les espèces mais dans tous les cas, elles sont absorbées par les plantes en proportion considérable ; on a pu montrer qu'annuellement un hectare de légumineuses enlève au sol 10 kg de silice, un hectare de hêtres 63 kg, un hectare de blé 105 kg. Le blé est particulièrement riche en silice ; BLANCHARD et CHAUSSIN ont montré que pour 100 grammes de poids sec de blé, il y avait 3 grammes de silice dont 0,61 g de silice soluble.

Dans les céréales, ce sont les tiges, feuilles et enveloppes de graines, qui sont riches en silicium ; débarrassées

de leur péricarpe, les graines de blé n'en contiennent que des traces, et dans le cas du riz, 4 à 6 mg pour 100 g de cendres.

Si la silice peut fournir 40 à 60 % des cendres des feuilles et tiges de certaines graminées, dans le cas des tiges de prêles, elle représente 80 % des cendres.

Tandis que le calcium est absorbé au début de la germination, le potassium et le phosphore à la fin, la silice, elle, est absorbée de manière constante au cours de la germination puis du développement de la plante ; sa grande absorption explique, pour une grande part, l'augmentation continue du pourcentage des matières minérales.

Les teneurs en silicium peuvent évidemment varier selon le sol et les conditions de culture mais les divers végétaux se rangent toujours dans le même ordre : les graminées en sont plus riches que les légumineuses chez lesquelles c'est le calcium qui domine ; la pomme de terre est parmi les tubercules un de ceux dont la teneur en silicium est la plus basse, 0,2 à 8 mg pour 100 g de cendres.

LOCALISATION.

Il découle du paragraphe précédent que la silice est présente surtout dans les feuilles (épiderme) et dans la paroi des tiges ; la feuille de blé par exemple, renferme quatorze fois plus de silice que la racine et dix fois plus que la tige ; contrairement à ce qui a lieu pour certains tissus animaux, elle s'accumule avec l'âge, sa teneur pouvant augmenter, après la germination, de une à quatre cents fois et même mille fois, mais ici, nous l'avons dit, les formes insolubles sont de beaucoup dominantes.

Après avoir été absorbée, la silice est entraînée par la sève vers les diverses parties de la plante soumises à la vaporisation et à la perspiration, en particulier vers la tige et les feuilles, elle est d'autant plus abondante que la respiration, et par suite la vaporisation d'eau, est plus intense ; l'eau est évacuée par perspiration et les matières minérales peuvent alors, soit rester dissoutes dans le suc cellulaire, soit précipiter sous forme de silice insoluble.

ROLES.

a) *Rôle fertilisant :* les graines placées dans un milieu ou un sol sans silice poussent peu et il y a, en particulier chez les graminées (blé, avoine, millet, orge, riz) une amélioration nette des rendements par addition de silicates. Il faut faire une exception pour le maïs, qui est pauvre en

silice, et a pu être cultivé sur des milieux synthétiques exempts de silice. KING et DAVIDSON ont montré par ailleurs une augmentation de la croissance des diatomées par adjonction de silicates à des taux convenables ; les cendres de celles-ci sont extrêmement riches en silicium. La silice est donc, sauf exception, un élément vital pour les plantes.

b) *Rôle de soutien :* elle joue aussi un rôle de soutien, et associée au calcium, elle intervient dans le coefficient de rigidité de la plante ; il y a d'ailleurs souvent balancement entre le taux de calcium et celui de la silice ; la feuille de châtaignier par exemple, contient dans ses cendres 75 % de chaux et 1 à 5 % de silice, celle des roseaux 66 % de silice et 5 % de chaux (SUN YUN TAO).

c) *Rôle de protection :* SUN YUN TAO montre dans sa thèse le rôle favorable joué par la silice dont la présence confère aux membranes végétales la propriété de s'opposer à la pénétration de certaines moisissures qui contaminent les céréales ; c'est ainsi que le millet cultivé sur un sol sans silice se développe mal et est envahi par les moisissures.

d) *Rôle dans le métabolisme :* la silice possède un rôle synergique dans l'utilisation d'autres éléments et elle aurait, en particulier, selon MONCEAUX, une action favorable sur la pénétration et l'utilisation des phosphates en activant leur solubilisation ; selon URNEMURA, elle aurait une action inhibitrice sur certaines phosphatases (riz, pomme de terre).

Les silicates peuvent jouer le rôle de tampon comme les phosphates et les sels des acides organiques et éventuellement les remplacer dans le maintien du pH de réaction du milieu ; ils peuvent ainsi économiser la mise en solution des acides organiques et des phosphates et leur permettre de constituer des réserves.

Les rôles de la silice sont donc multiples chez les plantes et les conséquences de sa carence en matière d'économie agricole peuvent être importantes. Bien que son taux et sa localisation soient assez bien connus, les formes sous lesquelles interviennent ses dérivés au cours des divers processus métaboliques, les acides auxquels le silicium est lié et la façon dont il se dépose aux divers niveaux de la plante sont encore peu précis.

Nous avons pensé, bien que ces notions soient, *a priori*, loin de notre sujet, devoir les résumer avant d'aborder ce que l'on sait du silicium dans le monde animal.

III. — LE SILICIUM CHEZ LES ANIMAUX SUPÉRIEURS

Après avoir cité quelques faits importants concernant le silicium chez les végétaux, nous passerons en revue les connaissances acquises en biologie animale sur cet élément, qui nous semblent les plus importantes pour notre travail.

Dans son traité classique, ROGER (1937), place le silicium parmi les éléments jouant un rôle plastique et fonctionnel dans les tissus animaux, et il fait remarquer que le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, le phosphore, le soufre, le potassium, le sodium, le chlore, le calcium et le magnésium représentent à eux seuls 99 % des organismes animaux, les autres éléments ne s'y trouvant qu'en quantités minimes.

On a cru longtemps à un rôle purement plastique non dynamique du silicium dont on ne connaissait l'existence que dans la peau, les ongles, les phanères... ; puis on découvrit sa présence dans le tissu conjonctif de plusieurs organes et, malgré son pourcentage faible, son rôle fonctionnel s'est avéré réel et peut être important.

ÉTAT DU SILICIUM DANS LES TISSUS.

Le silicium existe dans les tissus à l'état de silice mais il est difficile de définir de façon nette les formes sous lesquelles se trouve cette silice.

Néanmoins, on distingue la silice d'interposition et la silice de constitution.

La première est une silice cristalline d'origine exogène introduite comme telle, étrangère à l'organisme et qui s'interpose dans les tissus sans jouer de rôle physiologique. Elle est essentiellement constituée par les poussières minérales de l'atmosphère et va particulièrement se fixer dans le poumon où sa présence abondante peut se traduire par une silicose ; de plus une faible part de la silice ingérée peut se trouver traverser le tube digestif.

La seconde fait partie intégrante de la matière vivante et mérite l'appellation de constituant physiologique.

DESOILE, DEROBERT et J. LEBRETON admettent que la silice du sang se trouve :

pour 10 % sous forme directement soluble dans l'eau,

pour 60 % liée aux protéines,

pour 30 % liée aux lipides.

Les opinions sont assez divergentes sur les combinaisons de la silice tissulaire ; il est probable qu'elle existe sous forme de silice amorphe ou colloïdale, de silicates plus ou moins solubles et de composés organo-siliciques.

Isaacs pensait que la silice pouvait constituer des complexes avec certaines substances lipidiques ; d'autres auteurs aussi, comme Holzapfel, Kerner-Esser, la voyaient liée soit aux lipides, soit aux stérols ; d'autres encore en faisaient une partie intégrante de molécules organiques mal définies.

Nos recherches personnelles, exposées dans les derniers chapitres de notre travail, nous ont amenés à conclure que la silice est liée particulièrement dans l'artère, au tissu élastique et à la substance fondamentale.

MISE EN ÉVIDENCE HISTOLOGIQUE DE LA SILICE TISSULAIRE DANS L'AORTE.

La silice tissulaire, spécialement aortique, a été mise en évidence sur les coupes histologiques de tissu par C. Polet par le procédé suivant : il attaque les coupes d'artères à sec par des vapeurs d'acide perchlorique, il les rince pour éliminer les dérivés solubles, et les examine au microscope en lumière polarisée. Dans ces conditions, toutes les formes non solubles de la silice, silice colloïdale ou amorphe, silicates alcalins, complexes siliciques, précipitent pour donner de la silice cristalline ; il a été en effet confirmé par les minéralogistes que la silice pouvait cristalliser à basse température en présence d'acide perchlorique.

Par cet élégant procédé et avec toutes précautions et vérifications utiles, C. Polet a montré la présence de la silice aux divers niveaux de l'artère :

Elle apparaît particulièrement abondante, en gros amas, dans l'adventice ; il y en aurait moins dans l'intima où elle se trouverait plutôt dans le chorion que dans l'endothélium ; dans la média, où la proportion est à peu près la même que dans l'intima, elle est localisée surtout dans la partie interne.

De plus, l'auteur fait remarquer que, sur des coupes d'artères athéromateuses, la silice est presque complètement absente de l'intima et fortement diminuée au niveau de la média et de l'adventice ; elle semble inexistante surtout aux points où se trouvent les altérations conjonctivo-élastiques.

Tous ces faits nous sont apparus comme très intéressants et nous verrons que les dosages chimiques faits au cours de ce travail les confirment.

RÉSUMÉ DES RÉSULTATS CONCERNANT LES AUTRES TISSUS.

Si l'on recherche dans la littérature les chiffres concernant les teneurs en silicium des tissus de l'homme et des animaux, on est étonné du peu de données publiées et surtout de leur disparité.

Les plus anciens dosages remontent à Von Gorup Besanez (en 1848) : cet auteur trouvait un taux de silice notable dans les cendres des animaux, toutefois très inférieur à celui existant dans les plantes ; Schulz, le premier, signale la présence de silice dans le tissu conjonctif d'organes chez l'homme. Roger en trouve dans le sang, le lait, la peau, les phanères et surtout dans les capsules surrénales et le thymus.

Les résultats des divers auteurs sont malheureusement très divergents, ce qui prouve et relève de la difficulté du dosage. A titre d'exemple de cette dispersion, voici quelques chiffres publiés indiquant le taux de silicium :

a) *Dans le sang humain.*

Selon	Silicium exprimé en mg par litre	
Gonnermann	200	(sang)
Kraut	160	—
King et Stantial	9	—
King, Stantial et Dolan	7 à 27	—
Parri et Scotti	350	(plasma)

b) *Voici d'autre part les résultats donnés par* Schulz (1901) *sur quelques tissus de l'homme et du bœuf :*

	Silicium en mg par kg de tissu frais
Muscle de l'homme	23
Tendon de l'homme	63
Aponévrose de l'homme ..	106
Muscle de bœuf	42
Aorte de bœuf	98
Tendon de bœuf	108
Cristallin de bœuf	69

c) *Dans les organes du lapin,* les données suivantes ont été publiées :

	Silicium exprimé en mg par kg de tissu frais		
	Isaacs	King	Ramel
Sang	0	0	12 (par litre)
Foie	0 - 5,6	150 - 212	35
Rein	5 - 17,5	115 - 157	28
Poumon	3,9 - 12	125 - 139	270
Cerveau	18 - 8,8 - 18	0	0

On voit d'après ces exemples que les données sont rares et les valeurs entièrement différentes selon les biologistes.

CHAPITRE II

Le dosage du silicium

Techniques utilisées pour le silicium

Le potassium et le calcium

DOSAGE DU SILICIUM

I. — PRINCIPE DES DIVERSES TECHNIQUES UTILISÉES A CE JOUR

Le dosage du silicium est délicat ; la méthode la plus anciennement connue remonte à 1847 ; depuis, de nombreux auteurs se sont penchés sur les difficultés du dosage ; beaucoup de méthodes, tant gravimétriques que volumétriques et colorimétriques, sont nées de ces recherches sans toutefois aboutir à des résultats parfaitement satisfaisants, étant donné le taux parfois minime du silicium et la présence d'éléments parasites.

Les choses se présentent de façon relativement facile en biologie végétale où le silicium se trouve en quantité appréciable et où les méthodes même pondérales ou volumétriques sont satisfaisantes ; il n'en est pas de même pour les tissus animaux dans lesquels le silicium n'existe qu'à l'état d'oligo-élément, empêchant l'emploi des méthodes gravimétriques qui nécessitent des quantités trop importantes de la substance à doser ; les méthodes colorimétriques sont alors les seules possibles, mais de nombreux facteurs et des éléments parasites peuvent intervenir pour donner des colorations identiques à celle développée par le silicium.

D'après nos recherches, c'est la méthode colorimétrique au silico-molybdate d'ammonium, perfectionnée par RAMEL, qui nous a paru la plus sûre et le plus pratique. Je tiens ici à remercier M. le Professeur TRUHAUT de ses conseils éclairés.

Nous passerons en revue les principales autres méthodes, puis nous exposerons en détails la méthode que nous avons adoptée.

1° Méthodes pondérales :

La plus anciennement connue est celle de VON GORUP BESANEZ (1847), modifiée par KUNKEL, SCHULZ et GONNERMANN ; elle est longue et nécessite des quantités importantes

de la substance à examiner ; elle consiste en une incinération de la substance avec fusion alcaline, puis en une insolubilisation de la silice par plusieurs additions d'acide chlorhydrique suivies de chauffage ; le résidu obtenu est lavé, séché, calciné au four à moufle et pesé.

MÉTHODE DE KRAUT (1931).

Kraut minéralise la substance et insolubilise la silice par un mélange sulfo-nitrique ; après filtration et lavage, il volatilise le silicium sous forme de fluorure de silicium grâce à de l'acide sulfurique associé à de l'acide fluorhydrique et calcule le poids de silicium par différence entre la pesée après minéralisation et insolubilisation et la pesée après volatilisation. Cette méthode semble donner des erreurs par excès et Kvist (1938) préfère la volatilisation par l'acide fluorhydrique seul.

LEMATTE, BOINOT ET KAHANE.

minéralisent la substance et insolubilisent la silice par un mélange nitro-sulfurique ou sulfoperchlorique ; ils pèsent la silice après filtration et lavage.

Toutes ces méthodes sont de bonnes macro-méthodes, mais il n'est pas sûr que la silice soit totalement insoluble dans les acides forts, si elle n'a pas été complètement déshydratée par chauffage à haute température ; les lavages aux acides dilués permettent de dissoudre les sels métalliques et les lavages finaux se font la plupart du temps à l'eau chlorhydrique.

Ces conditions étant observées, il n'en reste pas moins que ces méthodes ne permettent pas de doser des quantités minimes de silicium.

MÉTHODE DE KING.

King a proposé une méthode plus précise : il incinère le tissu à analyser avec quatre fois son poids de bicarbonate de sodium, de manière à transformer au cours de cette fusion alcaline la silice en silicates solubles, car, selon ses observations, la silice minérale est souvent insoluble dans les agents chimiques, alors que la silice de constitution est plus facilement soluble ; il insolubilise ensuite la silice par divers traitements à l'aide d'acide chlorhydrique après complète déshydratation ; il filtre la silice précipitée directement dans la capsule de platine à l'aide d'une baguette filtrante, la lave, la sèche, la redissout avec SO_4H_2 dilué, la reprécipite, la sèche et la pèse.

2° Méthodes colorimétriques :

Les méthodes colorimétriques consistent à combiner les silicates solubles avec du molybdate d'ammonium pour former des silico-molybdates de couleur jaune dosables par photométrie.

Mais, la spécificité de ces méthodes, appliquées en milieu complexe, risque d'être mise en défaut par la présence de phosphates, d'arséniates et de germaniates qui peuvent former, eux aussi, des complexes molybdiques ; si en général il y a très peu d'arsenic et de germanium dans les échantillons biologiques à analyser, on y trouve par contre beaucoup de phosphore en égard aux faibles quantités de silicium ; ainsi, par exemple, le taux moyen du phosphore sanguin est de 360 mg par litre alors que celui du silicium n'est que de 5 à 10 mg ; le tissu hépatique contient 1,12 g de phosphore et 3 mg environ de silicium pour 100 g de tissu sec. Il est donc nécessaire d'éliminer l'interférence du phosphore dans la réaction colorimétrique ; le tableau I montre selon les auteurs, les diverses façons d'éliminer au maximum les phosphates et plusieurs des procédés utilisés pour supprimer l'interférence colorimétrique des phosphomolybdates.

TABLEAU I

a) *Techniques d'élimination des phosphates*

Auteurs	Procédés
King. Bödnar et Török. Dienert et Wandenbulcke.	Précipitation sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien.
King et Stantial.	Précipitation sous forme de phosphate neutre de calcium par le chlorure de calcium et l'hydroxyde d'ammonium.
King et Stantial.	Précipitation à l'état de phosphate ferrique par du chlorure ferrique.
Vivario et Conhaire.	Insolubilisation de la silice et lavages du précipité recueilli.

b) *Divers inhibiteurs de l'action perturbatrice des phosphates*

Isaacs.	Acide acétique.
Parri et Scotti.	Citrate monoacide d'ammonium.
Kraut et Weber.	Acide oxalique.
Denis et Meysenburg.	Acide nitrique.
Boyle et Hughey.	Tartrate d'ammonium.

Le fer est aussi un élément perturbateur de cette réaction, car il peut donner des colorations parasites ; le tableau II montre quelques-uns des procédés d'élimination du fer qui ont été employés.

TABLEAU II

Procédés utilisés pour éliminer le fer ou en inhiber l'action sur la réaction

Auteurs	Procédés
Dienert et Wandenbulcke.	Précipitation du fer à l'état d'hydroxyde ferrique par barbotage d'air.
King.	— d° —
Parri et Scotti.	Citrate monoacide d'NH_4.
King et Stantial.	Précipitation sous forme de phosphate ferrique en milieu sulfurique.
Bodnar et Török.	Formation d'un complexe avec le cyanure de K et l'acide nitrique.
Kraut et Weber.	Transformation en chlorure ferrique et extraction de ce dernier par l'éther.
Boyle et Hughey.	Inhibition par le tartrate d'NH_4. Précipitation par le chlorure de calcium et le carbonate de potassium.

Citons maintenant dans leur ordre chronologique les méthodes colorimétriques connues :

La plus ancienne est celle de Schreiner en 1903 ; elle fut reprise et modifiée par Lincoln et Baker en 1904, par Winkler en 1914, puis par Dienert et Wandenbulche en 1923, par Atkins la même année et enfin par King en 1928.

Isaacs proposa dès 1924 la réduction du silico-molybdate d'ammonium jaune en bleu de molybdène par un agent réducteur ; il fut suivi par Oberhauser et Schormuller en 1929, King en 1930, ainsi que par Bey et Tetelbaum la même année ; ces différents auteurs employèrent divers agents réducteurs.

TABLEAU III

Réducteurs du complexe silico-molybdique utilisés par les différents auteurs

1924 - Isaacs.	Sulfite de sodium.
1929 - Oberhauser et Schormuller.	Chlorure stanneux.
1930 - King.	Hydroquinone et sulfite de Na.
1930 - Berg et Tetelbaum.	Pyrrole.
1933 - Parri et Scotti.	Chlorhydrate d'hydroxylamine et hydrosulfite de sodium.
1933 - King et Stantial.	Acide 1.2.4. amino-naphtol sulfonique.
1939 - Bodnar et Török.	Hydroquinone et sulfite de sodium.
1942 - Kraut et Weber.	Hydroquinone et sulfite de sodium.
1947 - Lange.	Hydroquinone et sulfite de sodium
1949 - Gohr et Scholl.	+ chlorure stanneux. Hydroquinone et sulfite de sodium

Nous ne retiendrons que quelques-unes de ces méthodes.

DIENERT ET WANDENBULCKE.

cherchèrent surtout à doser le silicium dans les eaux et leur méthode est basée sur la formation d'un silico-molybdate jaune mesurable au photomètre, par combinaison de molybdate d'ammonium, et de silicate en milieu sulfurique, les phosphates étant éliminés à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien et le fer précipité à l'état d'hydroxyde ferrique.

KING.

en 1928 incinère la matière organique avec de l'acide nitrique, du nitrate de magnésium et de l'acide borique, insolubilise la silice par de l'acide nitrique, la redissout dans de l'eau acétique ; après adjonction de soude à l'ébullition et de chlorure d'ammonium pour précipiter le phosphore à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien, il filtre et effectue sur le filtrat la réaction colorée du silico-molybdate d'ammonium ; il compare la coloration jaune obtenue à une solution standard d'acide picrique étalonnée par équivalence avec une solution de silice étalon.

VIVARIO ET CONHAIRE (1932).

Après incinération, ils reprennent le résidu par de l'acide chlorhydrique, insolubilisent la silice par chauffage avec de l'acide perchlorique et la transforment en silicates solubles à l'aide de carbonate de sodium et de potassium pour aboutir finalement à la même coloration que précédemment.

ISAACS (1923).

est l'un des premiers à avoir proposé la réduction de la coloration jaune du silico-molybdate d'ammonium en bleu de molybdène, la coloration bleue étant plus facilement appréciable en photométrie ; il transforme la silice en silicates solubles à l'aide de soude à l'ébullition ; après acidification acétique, il ajoute le molybdate d'ammonium et réduit par le sulfite de sodium ; il prétend que, dans les conditions de température et d'acidité faible où il se place, les phospho-molybdates, s'ils s'en forment, ne sont pas réduits par le sulfite de sodium.

KING (1930).

à l'instar d'Isaacs modifie sa méthode proposée en 1928, par réduction de la coloration en bleu de molybdène par le sulfite de sodium.

KING ET STANTIAL EN 1933.

apportent quelques modifications à la précédente méthode ; ils incinèrent la substance avec quatre fois son poids de bicarbonate de sodium ; après adjonction d'eau et bain de vapeur, ils neutralisent par l'acide sulfurique N ; ils ajoutent alors une solution d'acétate de sodium pour précipiter le fer et le phosphore à l'état de phosphate ferrique et d'acétate ferrique basique ; ils filtrent le mélange ; pour s'assurer qu'il ne reste pas trace de phosphore, ils font sur 1 ml de filtrat la réaction colorée du phospho-molybdate d'ammonium qui doit se développer très rapidement ; et pour vérifier qu'il ne reste pas trace de fer, ils soumettent 1 ml de filtrat à la réaction au ferrocyanure de potassium en présence d'une goutte d'acide acétique dilué.

Ils ajoutent alors au filtrat une solution de molybdate d'ammonium en solution dans de l'acide sulfurique N, puis un agent réducteur et un peu d'acide sulfurique pour stabiliser la coloration bleue.

Une variante de la méthode consiste, après précipitation des phosphates et des sels de fer, à ajouter au filtrat du pyramidon de façon à former un silico-molybdate de pyramidon que l'on centrifuge et que l'on redissout dans l'acide molybdique additionné de l'agent réducteur pour obtenir une coloration bleue plus intense.

La solution étalon de silice ne doit pas être conservée plus d'une semaine, elle est faite à partir d'acide silicique obtenu par hydrolyse de silico-fluorure de sodium.

minéralisent directement la substance contenant le silicium avec du carbonate acide de sodium, reprennent le résidu par de l'acide sulfurique et de l'acide nitrique en quantités modérées ; ils forment le complexe silico-molybdique qu'ils réduisent en bleu de molybdène par du chlorhydrate d'hydroxylamine associé à de l'hydrosulfite de sodium ; ils éliminent l'interférence des phospho-molybdates par le citrate mono-acide d'ammonium qui supprime en même temps l'action gênante du fer.

3° Choix de la méthode :

Comme nous allons l'exposer, c'est en fait une technique dérivée de celle-ci que nous avons utilisée.

En effet, les méthodes pondérales ne pouvaient être employées pour les dosages que nous nous proposions de faire en raison de la longueur des manipulations et de leur peu de sensibilité, nécessitant que l'on opère sur d'énormes quantités de tissu, ce qui n'est pas réalisable dans la majeure partie des cas.

Parmi les méthodes colorimétriques, nous n'avons pas retenu celles qui éliminent les phosphates par précipitation car cela oblige à des filtrations et à des lavages générateurs de pertes ; nous n'avons pas non plus retenu celles qui insolubilisent la silice dans les acides forts, car il n'est pas sûr que cette insolubilisation soit tout à fait totale.

Au contraire la technique de Parri et Scotti après quelques modifications était adaptée à nos buts ; la fusion alcaline avec le bicarbonate de sodium qu'elle comporte, permet de détruire la matière organique en même temps qu'elle transforme la silice en silicates ; le citrate trisodique décompose les phospho-molybdates sans avoir recours à une précipitation et présente sur le citrate mono-acide l'avantage de conduire à une coloration plus intense pour des quantités faibles déterminées de silicium ; enfin le sulfite de sodium apporte à la coloration la stabilité nécessaire aux lectures.

II. — MÉTHODE UTILISÉE AU COURS DE CE TRAVAIL

A partir de la technique de Parri et Scotti, Ramel a mis au point une méthode de dosage qui, avec quelques précisions, nous a donné des résultats valables. Nous décrirons en détails cette méthode modifiée.

1° REMARQUES PRÉLIMINAIRES.

Nous devons insister dès l'abord sur les six points de technique qui nous apparaissent d'importance capitale et que nous avons dû préciser pour obtenir des résultats satisfaisants.

a) *L'acidité du milieu réactionnel.*

Le pH de la réaction a une importance considérable ; le pH 1,2 est nécessaire et suffisant pour permettre la formation du silico-molybdate mais, d'autre part, la formation des phospho-molybdates se fait très bien à des pH inférieurs à 1 ; donc, plus l'acidité est forte, plus l'ion Po_3^- risque de gêner ; il faut, par conséquent, définir rigoureusement l'acidité du milieu qui doit être suffisamment forte pour permettre la formation du complexe silico-molybdique et pas trop cependant pour que le complexe phospho-molybdique ne se forme pas trop facilement ; de plus, la coloration bleue finale est d'autant moins intense et tend d'autant plus à virer au bleu-vert que l'acidité est plus forte. Le pH optimal est 1,2 - 1,3 ; il est obtenu grâce à de l'acide sulfurique 2 N à la dose de 6 ml pour 1 g de bicarbonate de sodium.

b) *Décomposition du phospho-molybdate d'ammonium.*

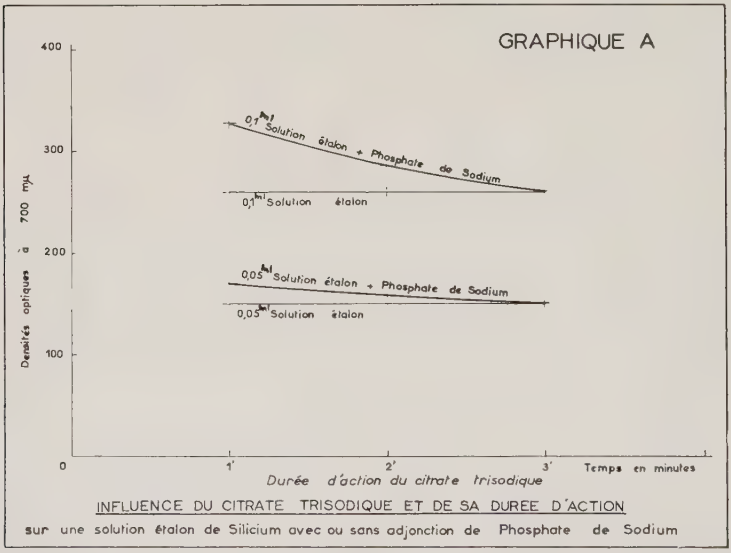
Les moyens de précipitation des phosphates risquent de compliquer les manipulations et d'entraîner des pertes ; aussi ont-ils été avantageusement remplacés par des procédés faisant appel à la décomposition du complexe phospho-molybdique, éventuellement formé, sous l'influence de diverses substances.

Celle qui convient le mieux semble être le citrate trisodique à cause de sa neutralité ; ce sel décompose aussi le complexe silico-molybdique, mais dans un temps beaucoup plus long que le complexe phospho-molybdique ; nous avons vu ainsi que, pour une solution étalon de silicium contenant 0,24 mg de Si par ml, la décomposition du complexe phospho-molybdique dû au phosphate de sodium ajouté à raison de 1,6 mg de phosphore pour 0,5 ml de solution était complète en trois minutes ; elle était également complète pour 2,6 mg de phosphore ajouté à 0,1 ml de la solution silicique. Le tableau IV montre par la diminution des densités optiques la décomposition des phospho-molybdates en trois minutes par le citrate trisodique ; le graphique A donne la courbe qui traduit les résultats.

TABLEAU IV

INFLUENCE DU CITRATE TRISODIQUE ET DE SA DUREE D'ACTION SUR UNE SOLUTION ETALON DE SILICIUM AVEC OU SANS ADJONCTION DE PHOSPHATE

Quantité de solution étalon utilisée (0,24 mg de Si par ml)	Densités optiques pour $\lambda = 700$ mμ		
	Citrate 1'	Citrate 2'	Citrate 3'
0,05 ml	150	150	150
0,05 ml Phosphate de Na 8 mg	170	160	150
0,1 ml	260	260	260
0,1 ml Phosphate de Na 12 mg	330	285	260



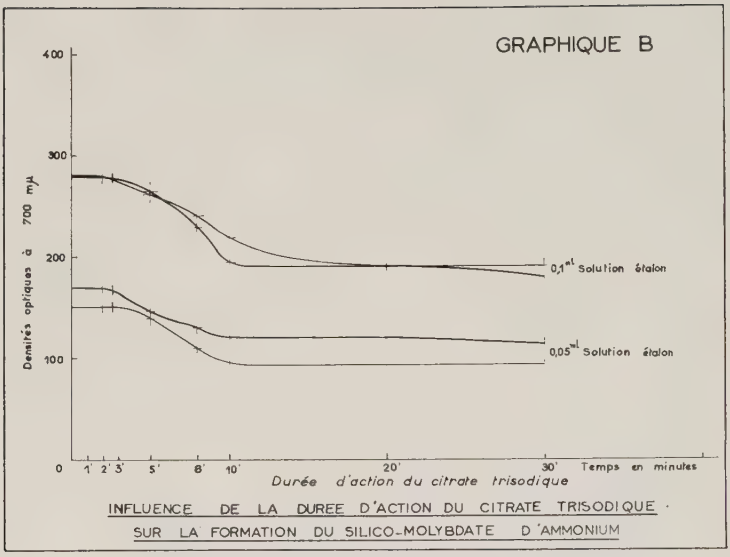
En trois minutes, le citrate trisodique inhibe l'interférence des phosphates

D'autre part, nous avons étudié la durée d'action du citrate trisodique sur une solution étalon de silicium et vu qu'effectivement, après trois minutes de contact, le silico-molybdate d'ammonium commençait à être décomposé ; la coloration bleue du silico-molybdate d'ammonium réduit diminue progressivement à partir d'un contact de trois minutes avec le citrate de sodium pour devenir stable vers la soixantième minute : tableau V et graphique B.

TABLEAU V

INFLUENCE DE LA DUREE D'ACTION DU CITRATE TRISODIQUE SUR LA FORMATION DU SILICOMOLYBDATE D'AMMONIUM

Quantité de solution étalon utilisée (0,24 mg de Si par ml)	Densités optiques pour $\lambda = 700$ mμ — Durée d'action du citrate en minutes									
	1'	2'	3'	5'	8'	10'	20'	30'	1 h	24 h
Courbe Type 1 — 0,05 ml	140	140	140	130	110	95	95	95	95	95
Courbe Type 2 — 0,05 ml	170	170	170	145	130	120	120	115	110	110
Courbe Type 1 — 0,1 ml	280	280	280	265	230	190	190	190	180	180
Courbe Type 2 — 0,1 ml	280	280	280	260	240	220	190	190	180	180



Le citrate trisodique ne décompose les silicomolybdates qu'au bout de trois minutes

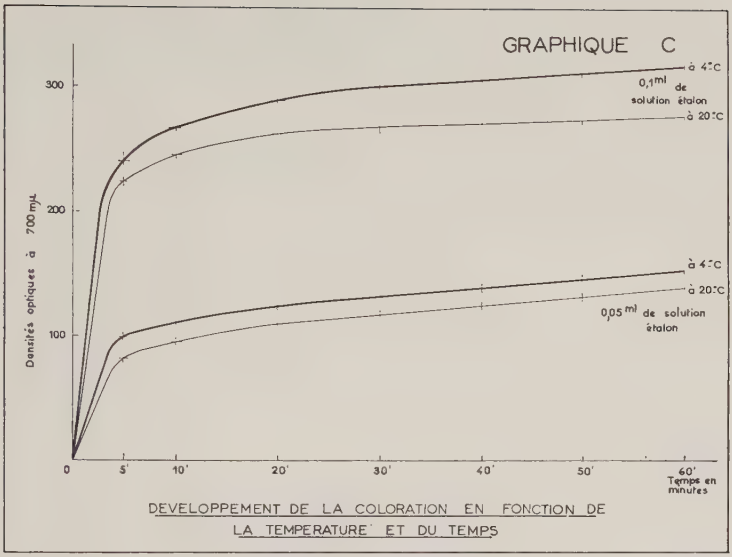
c) *Influence de la température.*

Nous avons précisé l'importance de la température sur le développement de la coloration. Il est nécessaire d'opérer toujours dans des conditions identiques et de faire la comparaison à chaque dosage avec une ou deux concentrations de la gamme étalon. Le développement de la coloration est d'autant plus rapide que la température est plus basse comme le montrent le tableau VI et le graphique C.

TABLEAU VI

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA COLORATION

Quantité de solution étalon utilisée (0,24 mg de Si par ml)	Densités optiques. Lectures faites après pour $\lambda = 700$ mμ				
	5'	10'	20'	30'	1 h
0,05 ml à 20° Moyenne de 10 essais	85	95	110	115	140
0,05 ml à 4° Moyenne de 10 essais	100	110	125	125	150
0,1 ml à 20° Moyenne de 10 essais	225	245	265	270	275
0,1 ml à 4° Moyenne de 10 essais	240	270	290	300	320



La coloration se développe plus rapidement à 4° C qu'à 20° C

d) *Stabilité de la coloration.*

La coloration est stable vingt-quatre heures et même quarante-huit heures si on a soin de garder les tubes à l'abri de la lumière et à basse température ; à la température ordinaire et à la lumière la coloration diminue faiblement et commence à prendre une teinte verdâtre au-delà de vingt-quatre heures.

e) *Influence de divers éléments.*

L'arsenic est présent à une concentration trop faible dans les tissus pour introduire une cause d'erreur appréciable.

Le fer donne des colorations parasites avec le molybdate d'ammonium aussi bien sous sa forme ferreuse que sous sa forme ferrique ; il est donc nécessaire de l'éliminer ; or la fusion alcaline carbonatée conduit nécessairement à la formation de carbonate et d'hydroxyde ferrique insolubles ; on les élimine par simple centrifugation.

TABLEAU VII

INFLUENCE DE LA LUMIERE
SUR LA STABILITE DE LA COLORATION

Quantité de solution étalon utilisée (0,24 mg de Si par ml)	Densités optiques pour $\lambda = 700$ mμ Lecture après		
	1 heure	24 heures	48 heures
0,05 ml à la lumière et à 20°	165	150	150 (coloration verdâtre)
0,05 ml à l'obscurité et à 4°	170	170	160
0,1 ml à la lumière et à 20°	280	275	275 (coloration verdâtre)
0,1 ml à l'obscurité et à 4°	280	280	270

f) *Pureté des réactifs* (*).

L'eau distillée est de l'eau bidistillée et les solutions qu'elle sert à préparer sont gardées de préférence dans des flacons en matière plastique au frigidaire.

Nous avons cependant constaté que la solution étalon diluée gardée au frigidaire dans un ballon pyrex pouvait se conserver un mois sans que sa teneur en silicium soit augmentée au contact du verre ; cette teneur en silicium aurait plutôt tendance à diminuer légèrement par la suite, comme l'ont déjà signalé plusieurs auteurs.

Avec l'élévation de la température, tout prend des proportions différentes et une fiole contenant de l'eau bidistillée mise à l'autoclave pendant une demi-heure s'enrichit en silice dans la proportion de 0,01 mg pour 50 ml d'eau bidistillée.

(*) Nous avons constaté la nécessité d'utiliser de l'eau bidistillée ; l'eau potable de Paris renferme 4 mg de silicium par litre, l'eau distillée des traces et l'eau bidistillée des traces indosables ; par ailleurs l'alcool à 95° renferme 0,4 mg de silicium par litre, le méthylal 0,19 mg et l'éther sulfurique RP seulement des traces.

Quant à la solution-mère étalon, conservée en flacon de matière plastique au frigidaire, elle peut conserver son titre intact pendant douze mois ; après quoi, son titre baisse progressivement en même temps que se produit un certain dépôt.

2° EXPOSÉ DE LA MÉTHODE UTILISÉE.

A) Réactifs.

Réactifs solides :

CO_3H Na - pur - exempt de silicium.

Réactifs liquides :

Les solutions suivantes sont toutes préparées avec de l'eau bidistillée et conservées en flacons bien rincés avec cette eau.

1° *SO_4H_2 2N.*

2° *Molybdate d'ammonium à 10 %.*

Conservation huit jours maximum.

Molybdate d'ammonium pur		10 g
Eau bidistillée	qsp	100 ml

3° *Citrate trisodique à 50 %.*

Citrate trisodique pur		50 g
Eau bidistillée	qsp	100 ml

4° *Sulfite neutre de sodium à 20 %.*

Conservation un mois.

Sulfite neutre de sodium pur		20 g
Eau bidistillée	qsp	100 ml

5° *Solutions étalons de silicium.*

a) *Solution mère concentrée de silicate de sodium.*
Solution officinale de silicate de sodium pur (D = 1,33 — 36° Bé) diluée au demi, dont le titre exact est déterminé par voie pondérale (voir plus bas). Cette solution étalon stockée en flacon de matière plastique, se conserve sans altération pendant un an.

b) *Solution étalon préparée extemporanément.*
Diluer la solution mère avec de l'eau bidistillée de façon, par exemple, que 1 ml de solution étalon corresponde à 0,1 mg de silicium.

B) Dosage du silicium dans la solution mère.

Introduire 20 ml de solution de silicate de sodium dans une capsule neuve de porcelaine de 100 ml, ajouter goutte à goutte 10 ml d'acide chlorhydrique officinal dilué au quart (en volume). Evaporer le tout au bain-marie, puis au bain de sable à + 200° en triturant continuellement pour éviter toute projection et obtenir un résidu pulvérulent. Répéter trois fois ces opérations.

Parachever l'insolubilisation de la silice par ébullition d'une heure avec 10 ml d'acide perchlorique pur en opérant sous une hotte. Dessécher au bain de sable et porter au four à moufle à + 700° pendant deux heures. Reprendre alors le résidu par ClH à 10 % bouillant et filtrer sur papier sans cendres en utilisant un entonnoir à filtration rapide. Laver longuement à l'eau distillée bouillante jusqu'à disparition de la réaction de l'ion chlore (précipitation par NO_3Ag par milieu nitrique). Dessécher à l'étuve à 100° le filtre sur son entonnoir. Incinérer dans un creuset de platine taré, préalablement nettoyé avec soin et rincé à l'eau bidistillée, en observant les précautions habituelles. Laisser refroidir au dessicateur et peser. Il faut déduire du chiffre obtenu la teneur en silicium de la solution mère.

C) Mode opératoire.

1° *Prise d'essai.*

Peser exactement la substance à analyser, broyée si possible.

2° *Minéralisation.*

Opérer dans une capsule de platine (parfaitement nettoyée et rincée à l'eau bidistillée).

Peser (à 1 cg près) 1 g de CO_3HNa et en recouvrir le tissu à analyser.

Sécher à l'étuve à 95°.

Chauffer ensuite au Bunsen avec la flamme éclairante puis chauffante jusqu'à obtention d'un liquide limpide ; poursuivre le chauffage cinq minutes après cessation complète du dégagement d'anhydride carbonique.

3° *Neutralisation et dissolution (élimination du fer).*

Après refroidissement complet, ajouter goutte à goutte dans la capsule 6 ml de SO_4H_2 2N. Recouvrir d'un entonnoir renversé pour éviter les projections.

Transvaser sans pertes dans un tube à centrifuger et centrifuger cinq minutes à trois mille tours.

Décanter la liqueur limpide dans un tube jaugé à 9,5 ml, de calibre suffisant pour permettre les agitations sans retournement (hauteur 10 cm, diamètre 2 cm).

Laver capsule et entonnoir avec 1,5 ml d'eau bidistillée. Transvaser dans le tube à centrifuger et agiter pour laver le culot d'hydroxyde ferrique. Centrifuger à nouveau et joindre au précédent le liquide décanté.

Pratiquer en opérant de la même façon un second lavage avec 1,5 ml d'eau bidistillée, ajuster finalement à 9,5 ml avec de l'eau bidistillée le volume total du liquide dans le tube jaugé.

4° *Préparation de la gamme des tubes étalons.*

Prendre quatre capsules de verre pyrex (dont on vaselinera le bec pour faciliter les transvasements).

Introduire dans chacune :

1 g CO_3HNa pesé à 1 cg près, puis goutte à goutte 6 ml SO_4H_2 2N, recouvrir d'un entonnoir renversé.

Après cessation de l'effervescence et dissolution complète, mesurer avec une pipette de précision :

Capsule n°	*Solution étalon à 0,1 mg de silicium par ml*	*Silicium dans l'essai*
—	—	—
0 Témoin	0 ml	0,00 mg
1	0,1 ml	0,01 mg
2	0,2 ml	0,02 mg
3	0,3 ml	0,03 mg

Transvaser dans quatre tubes jaugés à 9,5 ml (hauteur 10 cm, diamètre 2 cm).

Compléter au trait de jauge avec les eaux de lavage des capsules et des entonnoirs.

5° *Réaction colorée (suppression de l'interférence des ions phosphates).*

Ajouter à tous les tubes étalons et essais, en mélangeant bien après chaque addition, les volumes suivants de réactifs mesurés de façon précise :

a) 0,5 ml SO_4H_2 2N : attendre 10 minutes.

b) 2 ml de molybdate d'ammonium à 10 % : attendre 10 minutes.

c) 2 ml de citrate trisodique à 50 % : attendre 3 minutes *très exactement.*

d) 2 ml de sulfite neutre de sodium à 20 %.

6° *Lecture.*

Effectuer les mesures une heure *au moins* après addition de sulfite neutre.

Les mesures sont faites au *colorimètre spectral Länge* à 700 mμ avec un tube de 2 cm de diamètre et de 10 ml de capacité.

Pour chaque mesure, on fait trois lectures et on en prend la moyenne, puis on construit la courbe représentative (droite passant par l'origine) en portant en abcisses la quantité de silicium contenue dans l'essai, en ordonnées les densités optiques correspondant aux graduations.

Il est nécessaire de refaire un étalonnage à chaque dosage car la température du laboratoire peut varier, elle influe, et on peut obtenir des droites très légèrement différentes les unes des autres. Le tableau VIII et le graphique D montrent trois types de droites étalons obtenues.

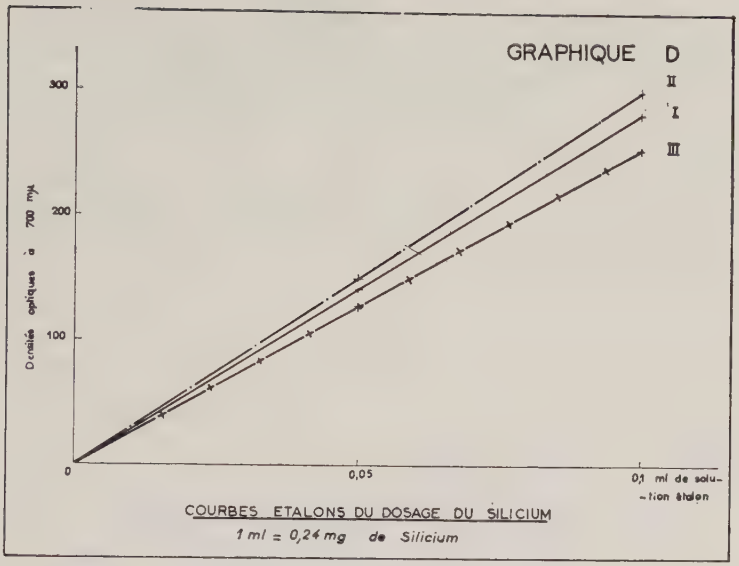
TABLEAU VIII

CHIFFRES CORRESPONDANT AUX COURBES ETALONS

Solution étalon de silicate de sodium correspondant à 0,24 mg de silicium par ml

Mesures faites dans des tubes de 10 ml sur la longueur d'onde de 700 mμ

Quantité de solution étalon	Courbe type I 25 mesures	Courbe type II 25 mesures	Courbe type III 25 mesures
0,00 ml	25	25	25
0,01 ml	55	55	55
0,02 ml	80	85	80
0,03 ml	105	110	95
0,04 ml	130	140	125
0,05 ml	160	170	150
0,06 ml	185	195	170
0,07 ml	210	220	195
0,08 ml	240	250	220
0,09 ml	265	280	240
0,10 ml	290	310	260



On déduit de la droite obtenue la quantité de silicium contenue dans la prise d'essai et on calcule la teneur en silicium par gramme d'échantillon soumis à l'analyse.

7° *Remarques.*

a) La coloration est stable, on peut encore effectuer une mesure même après vingt-quatre heures.

La coloration du témoin est pratiquement nulle ; en tout cas, on ne saurait tolérer une densité optique supérieure à la moitié de celle de l'étalon 0,01.

Lorsque les dosages portent sur des substances très pauvres en silicium, on peut concentrer la coloration finale dans un peu d'alcool isoamylique selon CHARLOT et GAUGUIN :

une heure au moins après addition de sulfite neutre, mesurer dans chacun des tubes (étalons et essais) :

— 5 ml d'alcool isoamylique pur et incolore, puis introduire goutte à goutte en agitant 5 ml $SO_4 H_2$ dilué au quart.

Agiter vigoureusement en retournant le tube pendant une minute ; laisser décanter, effectuer le dosage en prélevant la couche supérieure alcoolique colorée avec une pipette.

b) Eviter le plus possible durant les agitations qu'il y ait contact avec les doigts.

c) L'incinération est souvent très longue ; il faut chauffer suffisamment fort, mais éviter tout de même les projections et veiller à ce que le mélange en fusion ne grimpe pas le long des parois de la capsule, ce qui provoquerait des pertes.

d) La solution de molybdate d'ammonium s'altère rapidement et précipite, il faut donc la renouveler le plus souvent possible.

8° *Reproductibilité de la méthode.*

La gamme des tubes de la solution étalon donne des courbes très reproductibles à chaque mesure, si toutes les conditions sont scrupuleusement observées.

Pour les tissus il est difficile de faire des mesures exactes à moins de prélever des échantillons pesant au minimum 60 à 80 mg. La coloration bleue obtenue par réduction du silico-molybdate d'ammonium est sensible, permettant de déceler, selon nous, jusqu'à 3 microgrammes de silicium, mais on ne commence en général à considérer la courbe comme valable qu'à partir de 5 microgrammes.

Tous les dosages ont été faits chaque fois qu'il était possible en triple. Nous avons observé une bonne concordance des résultats sur les tissus sains ; elle est moins bonne sur les tissus altérés, de ce fait moins homogènes. En effet d'après des études histologiques faites sur des coupes de tissu incinéré, la moins bonne reproductibilité des dosages est en rapport, dans le cas des tissus pathologiques, avec l'hétérogénéité de la distribution du silicium. Les prélèvements doivent être aussi importants que possible et on constate que les dosages pratiqués sur des échantillons aussi minimes que des aortes de rat ou de lapin, par exemple, donnent parfois des résultats assez dispersés.

Le tableau IX donne les pourcentages de reproductibilité : sur des tissus sains, dans 60 % des cas, les dosages concordent à moins de 10 % près (dosages faits en triple) ; sur les tissus lésés, cette concordance ne se retrouve plus que dans 50 % des cas.

TABLEAU IX

REPRODUCTIBILITE DES MESURES EN FONCTION DU DEGRE DES LESIONS DANS UN TISSU ARTERIEL			
Lésions	Erreur comprise entre 0 et 10 %	Erreur comprise entre 10 et 20 %	Erreur comprise entre 20 et 30 %
0	60 % des cas	28 % des cas	12 % des cas
±	44 % des cas	43 % des cas	13 % des cas
+++	50 % des cas	22 % des cas	28 % des cas

III. — MODE D'EXPRESSION DES RÉSULTATS. CALCULS STATISTIQUES

Certains auteurs ont exprimé leurs résultats en milligrammes de silicium pour 100 grammes de tissu frais, d'autres plus nombreux en milligrammes de silicium pour 100 grammes de tissu sec ; pensant que la teneur en azote est une valeur plus stable et plus significative que le poids sec, nous avons exprimé les nôtres en microgrammes de silicium pour 100 milligrammes d'azote ; l'azote étant dosé pour chacun des tissus examinés par la méthode de KJELDAHL sur un échantillon. Dans le cas du sang pour lequel nous donnerons quelques résultats bien que son étude ne fasse pas l'objet de ce travail, les résultats seront donnés en milligrammes pour 1 000 ml de sérum. Donc :

μg pour 100 mg d'azote total de tissu ;

mg pour 1 000 ml de sérum.

CALCULS STATISTIQUES.

Au point de vue statistique nous avons calculé :

1) Les moyennes des résultats obtenus sur les échantillons prélevés et l'intervalle de confiance de cette moyenne correspondant à une probabilité de 95 % suivant la formule :

$$m = t \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

m moyenne des mesure

σ variance des mesures

n nombre des mesures

$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ écart type des mesures

t coefficient de STUDENT FISCHER qui varie selon le nombre des mesures.

2) La signification des moyennes des divers groupes suivant la formule :

$$t = \frac{mA - mB}{\sqrt{\frac{S^2}{nA} + \frac{S^2}{nB}}}$$

mA moyenne du premier groupe

mB moyenne du second groupe

S^2 variance commune aux deux groupes

nA nombre de mesures du premier groupe

nB nombre de mesures du second groupe

S^2 se calcule suivant la formule :

$$S^2 = \frac{\Sigma (x\text{-}mA)^2 + \Sigma (x\text{-}mB)^2}{nA + nB - 2}$$

$\Sigma (x\text{-}mA)^2$ somme des carrés des écarts à la moyenne dans le premier groupe.

$\Sigma (x\text{-}mB)^2$ somme des carrés des écarts à la moyenne dans le second groupe.

Pour avoir la valeur de t, il faut se reporter aux tables de FISHER et YATES qui donnent la probabilité de signification de deux moyennes ; nous considérons comme significative une différence de deux moyennes, lorsque la probabilité est de 95 % et le risque d'erreur de 5 %.

DOSAGES DU POTASSIUM ET DU CALCIUM

Nous décrirons brièvement les méthodes de dosage du potassium et du calcium qui sont classiques.

MÉTHODE DE DOSAGE DU CALCIUM DANS LES TISSUS (VELLUZ ET DESCHAZEAUX).

Principe : le calcium est précipité à l'état d'oxalate et on dose volumétriquement l'acide oxalique.

Réactifs : HCl à 5 % en volume.

Acide acétique à 0,5 % (acide acétique cristallisable).

Oxalate d'ammonium N/10.

Acide sulfurique à 5 % contenant 1 % de sulfate de manganèse.

Iodure de potassium pur.

Permanganate de potassium N/150.

Hyposulfite de sodium N/200 obtenu extemporanément par dilution d'une solution N/10.

Mélange alcool-éther-eau : alcool à 5 % 18 ml ; éther 18 ml ; eau distillée 15 ml.

Technique : on incinère le tissu sec dans une capsule de platine jusqu'à cendres blanches ; après refroidissement, on verse sur la capsule 2 ml d'HCl dilué à 5 % et on évapore à sec au bain-marie.

La capsule refroidie, on reprend le résidu par 5 ml d'acide acétique dilué cristallisable à 0,5 %.

On prélève 4 ml que l'on introduit dans un tube à centrifuger ; on ajoute 0,5 ml d'oxalate d'ammonium N/10 ; on agite et on maintient le tube en position verticale pendant trente minutes.

On centrifuge à grande vitesse, on décante et on remet le précipité en suspension dans 4 ml du mélange alcool-éther-eau. Après centrifugation, décantation et deux lavages avec ce mélange, on lave avec une solution contenant 1 volume d'alcool et 1 volume d'éther et une dernière fois avec de l'éther pur.

L'éther est éliminé en utilisant un bain-marie chaud ; on ajoute 5 gouttes d'acide sulfurique à 5 % additionné de sulfate de manganèse, en les faisant glisser le long des parois du tube et en agitant.

Le mélange étant encore tiède, on verse 2 ml de permanganate de potassium N/150 en agitant de nouveau et, après cinq minutes de contact, un cristal d'iodure de potassium pur.

On titre l'iode libéré par une solution d'hyposulfite N/200. Il faut titrer dans les mêmes conditions le permanganate de potassium.

Si n est le nombre de ml d'hyposulfite utilisés pour le dosage et N le nombre de ml utilisés pour le témoin, on a :

$(N-n) \times 0{,}125 =$ Calcium en mg dans la prise d'essai.

On rapporte les chiffres pour 100 mg d'azote.

MÉTHODE DE DOSAGE DU POTASSIUM DANS LES TISSUS (R. VALENCIA).

Le tissu est séché, pesé, puis incinéré jusqu'à cendres blanches directement dans la capsule de platine ; les cendres sont reprises par 15 ml d'acide chlorhydrique à 5 % et la lecture est faite au photomètre à flammes sur 766 $m\mu$; l'étalonnage est fait à partir d'une solution de chlorure de potassium à 100 mg %. Sur les tissus, le sodium et le phosphore présents ne troublent pas la réaction due au potassium, c'est pourquoi il est possible d'employer une solution de référence ne contenant que du potassium. Les résultats sont donnés en μg pour 100 mg d'azote.

MÉTHODES HISTOLOGIQUES UTILISÉES

L'examen histologique de l'aorte a été fait de la façon suivante ;

Coloration à l'hématéine-éosine safran pour les fibres conjonctives et musculaires.

Coloration au picro-indigocarmin pour les fibres élastiques.

Coloration au Soudan III pour les graisses.

Dans le cas de lésion aortique, l'on notait :

Une légère hyperplasie des fibrilles conjonctives.

Une raréfaction et une dislocation des fibrilles élastiques.

Une infiltration graisseuse de l'intima et de la partie profonde de la média.

CHAPITRE III

Données personnelles sur les teneurs en silicium de quelques organes ou tissus chez le rat, le lapin et l'homme

Nous avons réuni dans ce chapitre l'ensemble des résultats que nous avons obtenus sur divers tissus prélevés sur le rat et le lapin adultes, ainsi que sur quelques organes humains prélevés au cours d'autopsies.

En ce qui concerne le sérum, nous avons comparé les résultats trouvés chez le lapin et chez l'homme ; au contraire, pour les tissus, nous avons groupé les résultats par espèce.

Pour les tissus des trois espèces, nous rappellerons que la moyenne des résultats sera exprimée en µg de silicium pour 100 mg d'azote, l'intervalle de confiance de cette moyenne correspondant à une probabilité de 95 %.

A) RÉSULTATS CONCERNANT LE SÉRUM :

Le dosage dans le sérum se fait par un procédé analogue à celui décrit pour les tissus : on part d'une prise de 2 ml de sérum que l'on dessèche à l'étuve directement dans la capsule de platine et que l'on minéralise par la suite avec du bicarbonate de sodium.

Nous avons trouvé :

Dans le sang de cordon ombilical humain, des teneurs très faibles, de l'ordre de 0,7 mg par litre de sérum.

Dans le sérum humain, des teneurs allant de 2 à 13 mg par litre (dosages sur 40 sérums) ; ces chiffres sont du même ordre que les plus faibles publiés antérieurement par KING et Coll. et plus récemment par BOISSIER.

Dans le sérum de lapin, des teneurs allant de 2 à 5 mg par litre (dosages sur 20 sérums) ; ici encore nos résultats sont à rapprocher du chiffre indiqué par KING.

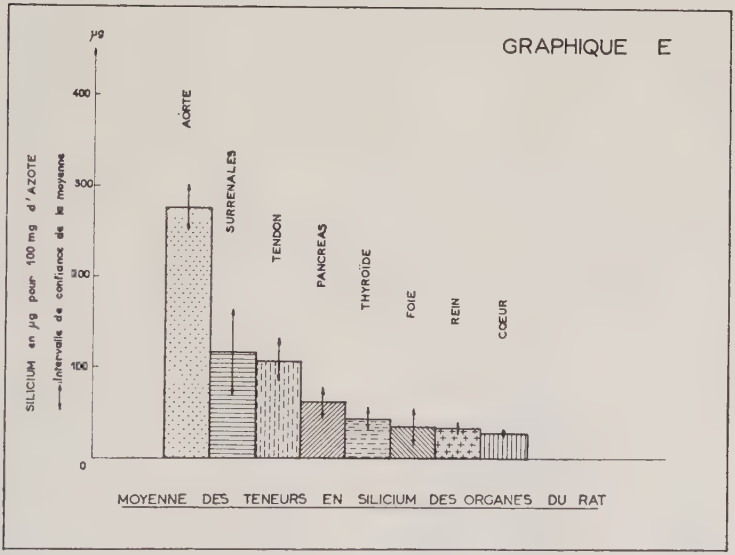
B) DOSAGES DU SILICIUM TISSULAIRE CHEZ LE RAT :

Les résultats provenant de 10 rats témoins adultes sont consignés dans le tableau X et le graphique E. Le foie, le rein, le cœur, la rate sont très pauvres en silicium ; le pancréas, le poumon sont plus riches ; les surrénales en contiennent une notable quantité ainsi que le tendon de la queue. Mais parmi les organes examinés, c'est dans l'aorte que l'on trouve les plus hautes valeurs, allant parfois jusqu'à 274 µg.

TABLEAU X

TENEURS EN SILICIUM DE DIVERS ORGANES DU RAT

Tissu	Silicium en µg pour 100 mg d'azote
Aorte	274 ± 24
Tendon	108 ± 19
Surrénales	108 ± 25
Poumon	70 ± 16
Pancréas	60 ± 16
Thyroïde	42 ± 13
Foie	33 ± 19
Rein	31 ± 4
Myocarde	25 ± 5
Rate	21 ± 5



C) DOSAGES DU SILICIUM TISSULAIRE CHEZ LE LAPIN :

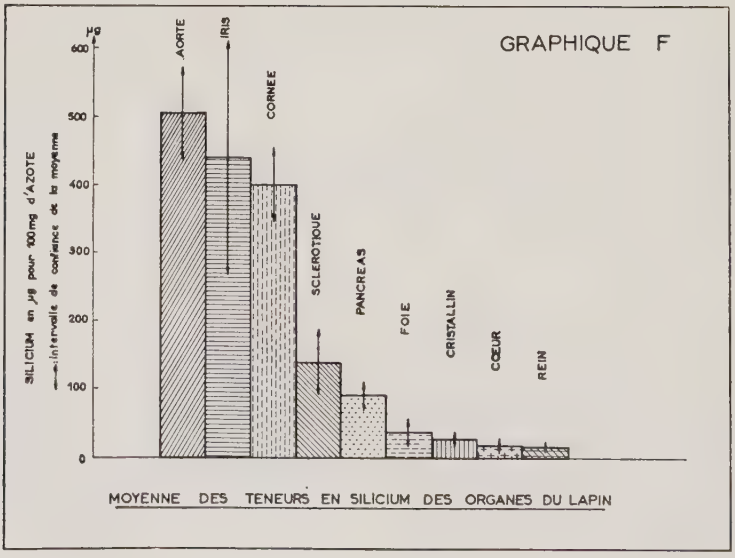
Les résultats provenant de 15 lapins témoins adultes sont consignés dans le tableau XI et le graphique F. Comme précédemment, le rein, le foie, et le cœur sont pauvres en silicium, le pancréas un peu plus riche, et l'aorte atteint par contre un taux moyen de 503 µg allant parfois jusqu'à 574 µg.

Ayant examiné chez cette espèce, les différentes parties de l'œil, nous avons été surpris de trouver des quantités considérables de silicium dans la cornée et dans l'iris, de l'ordre de 400 µg ; la cornée et l'iris d'un lapin étant d'un poids très faible, nos dosages, dans ce cas, n'ont pu être faits en triple exemplaire, ce qui explique un intervalle de confiance assez large ; mais pour tous les lapins, nous avons obtenu des chiffres élevés ; nous avons aussi trouvé du silicium dans la sclérotique et dans les liquides intérieurs de l'œil.

TABLEAU XI

TENEURS EN SILICIUM DE DIVERS ORGANES DU LAPIN

Tissu		Silicium en µg pour 100 mg d'azote
Aorte		503 ± 75
Pancréas		90 ± 20
Foie		39 ± 18
Rein		14 ± 4
Myocarde		18 ± 15
Œil :	Iris	440 ± 170
	Cornée	400 ± 58
	Sclérotique	137 ± 46
	Cristallin	28 ± 5



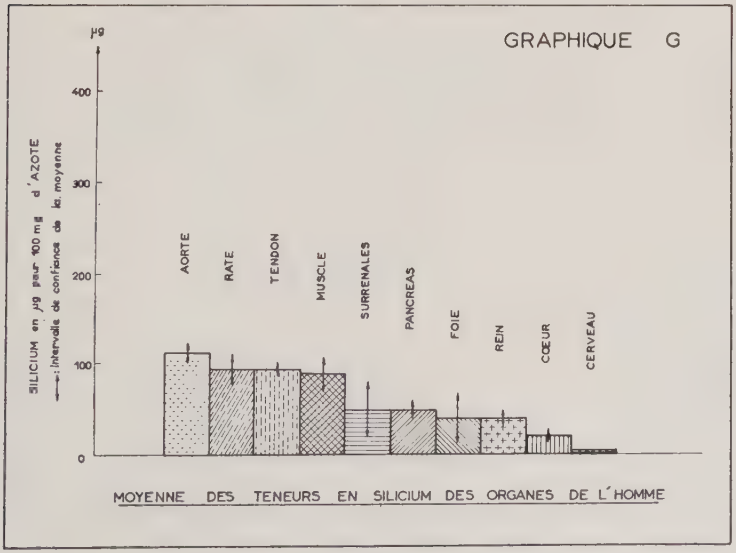
D) DOSAGES DU SILICIUM TISSULAIRE CHEZ L'HOMME :

Les résultats provenant d'une trentaine d'autopsies d'hommes de 20 à 50 ans apparemment normaux et considérés comme témoins, sont consignés dans le tableau XII et le graphique G. Comme d'autres auteurs, nous n'avons trouvé qu'à l'état de traces le silicium dans le cerveau ; le foie, le rein et le cœur sont, ici encore, toujours pauvres ; le pancréas nous a donné des résultats très dispersés, ce

TABLEAU XII

TENEURS EN SILICIUM DES DIVERS ORGANES DE L'HOMME

Tissu	Silicium en µg pour 100 mg d'azote
Aorte	105 ± 12
Tendon	91 ± 24
Muscle squelettique	60 ± 21
Rate	98 ± 14
Surrénales	47 ± 27
Pancréas	44 ± 12
Foie	39 ± 28
Rein	38 ± 4
Myocarde	18 ± 5
Cerveau	Traces



qui s'explique en grande partie, pensons-nous, par la difficulté d'obtenir un tissu pancréatique homogène, exempt de graisse péritissulaire. A l'inverse des animaux étudiés précédemment, la rate paraît être chez l'homme un organe riche avec un taux moyen de 98 µg ; quant à l'aorte, sa teneur moyenne est de 105 µg chez des adultes normaux, morts par suite d'accidents le plus souvent, et exempts de grosses lésions athéromateuses. Le muscle squelettique ne contient que 60 µg.

E) CONCLUSION :

Nous avons rassemblé dans le tableau XIII les résultats concernant les trois espèces, ce qui permet de comparer les teneurs des tissus homologues. On voit que les tissus conjonctif et élastique (tendon-aorte) sont les plus riches, le silicium y est préférentiellement localisé, l'aorte présentant toujours la valeur la plus élevée. Surrénales et pancréas viennent ensuite ; KALL pensait que le pancréas constituait une réserve de silicium, nos résultats ne sont pas en faveur de cette opinion. Les organes comme foie, rein, myocarde sont dans tous les cas relativement pauvres en ce métalloïde.

Nous verrons que la suite de notre expérimentation justifie l'intérêt que, dès l'abord, on est conduit à attacher à l'artère aorte.

TABLEAU XIII

COMPARAISON DES TENEURS EN SILICIUM DES TROIS ESPECES

Organe	Silicium en µg pour 100 mg d'azote		
	ESPÈCES		
	Homme	Rat	Lapin
Aorte	105 ± 12	274 ± 24	503 ± 75
Tendon	91 ± 24	106 ± 19	—
Surrénales	47 ± 27	108 ± 25	—
Pancréas	44 ± 12	60 ± 16	90 ± 20
Foie	39 ± 28	33 ± 19	39 ± 18
Rein	38 ± 4	31 ± 4	14 ± 4
Myocarde	18 ± 5	25 ± 5	18 ± 15
Rate	98 ± 14	21 ± 5	—

CHAPITRE IV

Influence de l'âge et du sexe sur les teneurs en silicium du tissu aortique de l'homme

Modifications observées lors de lésions athéromateuses

Dans ce chapitre, nous rapportons les résultats obtenus, dans le cas de l'homme considéré comme normal, concernant l'influence de quelques facteurs intrinsèques, âge et sexe, sur l'évolution de la teneur en silicium de l'aorte, ainsi que les données que nous avons pu établir sur des aortes de sujets athéromateux.

I. — TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE EN FONCTION DE L'AGE ET DU SEXE CHEZ DES SUJETS NORMAUX

KVORNING et KIRK avaient constaté que le taux du silicium *sanguin* ne variait pas de façon significative avec l'âge, et que le sexe ne semblait pas non plus comporter de différences. La faible teneur en silicium du sérum et les erreurs inhérentes à un dosage de ce fait, nous ont conduits à reprendre ce problème pour quelques tissus humains, spécialement pour l'aorte.

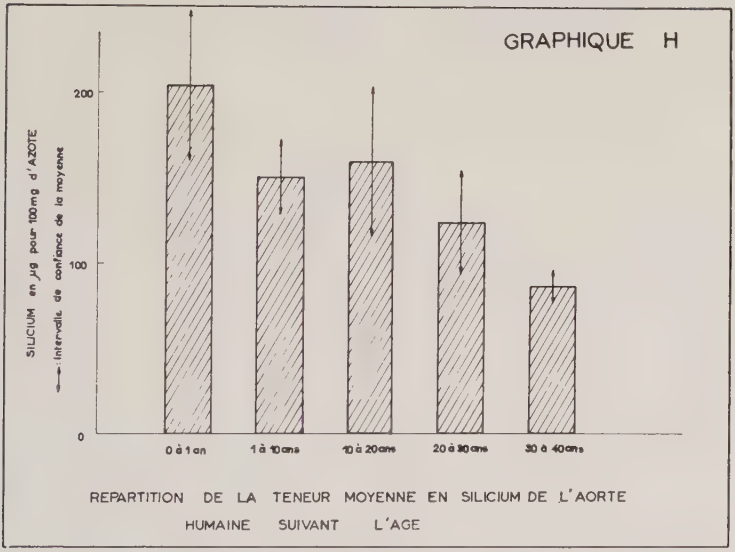
1° INFLUENCE DE L'AGE :

Nous avons pratiqué les dosages sur quelques aortes de nourrissons, de jeunes enfants, et sur de nombreuses aortes d'adultes « témoins » parce que considérés comme non atteints de troubles vasculaires. Dans le tableau XIV nous avons noté la moyenne des résultats en les groupant selon l'âge, de 0 à 1 an, puis par décennies jusqu'à 40 ans. Le graphique H illustre ces résultats. S'il est certain que les teneurs sont loin d'être homogènes au sein de chaque groupe, ce qui s'explique par l'impossibilité où nous étions de tenir compte d'une série de facteurs susceptibles d'intervenir sur cette teneur en silicium, il n'en reste pas moins que le sens du phénomène est très net. Pour 100 mg d'azote du vaisseau, nous constatons la présence d'une teneur très élevée chez quelques nourrissons, 205 µg en moyenne, puis une diminution rapide, visible déjà chez le jeune enfant, pour n'être plus que de 86 µg en moyenne chez le sujet de 40 ans. La différence est significative entre les catégories 0-1 an et 1-10 ans avec un coefficient t de 2,4, significative aussi entre les décennies 20-30 ans et 30-40 ans avec un coefficient t de 2,5.

TABLEAU XIV

EVOLUTION DES TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE CHEZ L'HOMME EN FONCTION DE L'AGE

Age des sujets	Nombre de cas examinés	Teneurs moyennes en silicium en µg pour 100 mg d'azote
0 à 1 an	5	205 ± 44
1 à 10 ans	10	152 ± 27
10 à 20 ans	6	160 ± 43
20 à 30 ans	8	125 ± 30
30 à 40 ans	7	86 ± 16



La teneur en silicium de l'aorte s'abaisse significativement avec l'âge entre 0-1 an et 1-10 ans, et entre 20-30 ans et 30-40 ans

2° INFLUENCE DU SEXE :

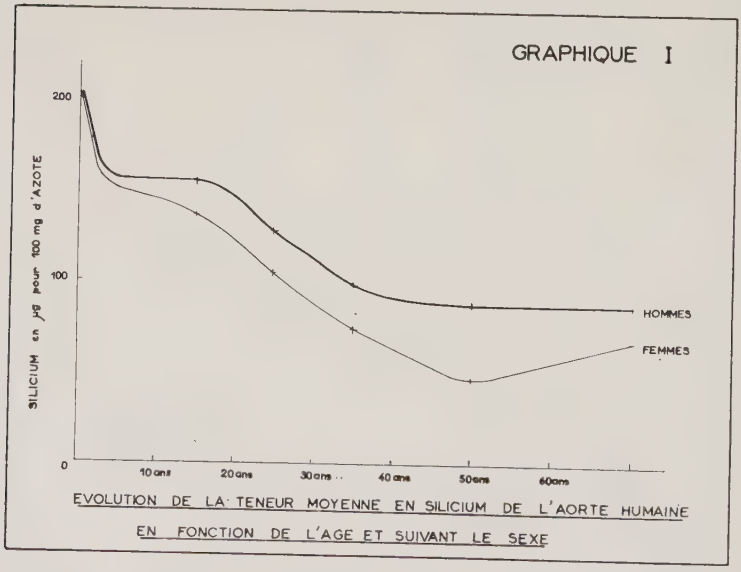
Dès le début de notre expérimentation en groupant les résultats sans distinction d'âge, nous trouvions une valeur moyenne de 95 µg de silicium pour 100 mg d'azote pour l'aorte de la femme, et une moyenne plus élevée de 115 µg pour l'aorte de l'homme. Mais ayant constaté l'influence de l'âge, ces chiffres n'avaient de signification que si le nombre des sujets des divers âges était le même.

TABLEAU XV

TENEUR EN SILICIUM DE L'AORTE
EN FONCTION DU SEXE CHEZ L'HOMME

Sexe	examinés Nombre de cas	Teneurs moyennes en silicium en µg pour 100 mg d'azote
Féminin	26	95 ± 23
Masculin	54	115 ± 13

Reprenant alors le problème en groupant les valeurs par décennies de 1 an jusqu'à 40 ans, puis de 40 à 60, et de 60 à 90 ans pour chacun des sexes, nous avons obtenu les résultats consignés dans le tableau XVI et représentés par les graphiques I et J.



Malgré la dispersion de certains résultats et le petit nombre de sujets examinés au sein de quelques décennies, nous pensons pouvoir conclure que chez la femme le taux du silicium aortique est inférieur à celui observé chez l'homme, la différence étant significative lorsque l'âge aug-

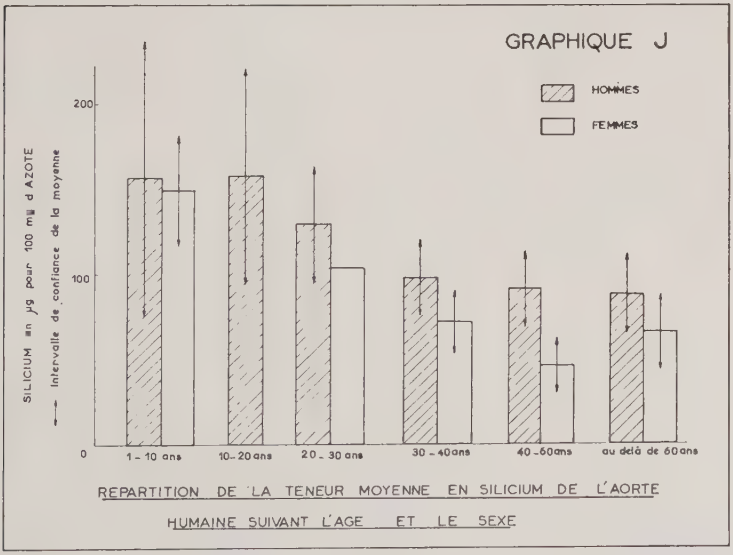
mente, ceci entre 30 et 60 ans. Après 60 ans la différence s'atténue, mais reste nette jusqu'à l'âge de 90 ans.

Les mêmes remarques que précédemment doivent être faites ici encore, car il est difficile d'avoir des sujets entièrement comparables pour l'espèce humaine.

TABLEAU XVI

TENEUR EN SILICIUM DE L'AORTE SUIVANT L'AGE ET LE SEXE

Catégorie	HOMMES		FEMMES	
	Nombre de cas	Teneurs moyennes en silicium en µg pour 100 mg d'azote	Nombre de cas	Teneurs moyennes en silicium en µg pour 100 mg d'azote
1 à 10 ans.	5	155 ± 81	5	150 ± 33
10 à 20 ans.	6	155 ± 65	0	
20 à 30 ans.	7	128 ± 34	1	105
30 à 40 ans.	4	97 ± 22	3	72 ± 16
40 à 60 ans.	12	89 ± 21	3	44 ± 19
60 à 90 ans..	16	88 ± 22	13	65 ± 20



La teneur en silicium de l'aorte est plus élevée en moyenne chez l'homme que chez la femme

II. — VALEURS DU SILICIUM DANS LES AORTES PRÉSENTANT DES LÉSIONS ATHÉROMATEUSES

Laissant de côté les discussions nombreuses et les opinions en constante évolution concernant leurs causes, on peut dire que les lésions artérielles de l'athérome sont caractérisées par un dépôt lipidique au niveau des couches profondes du tissu artériel, associé à divers types d'altérations : hyperplasie de l'*intima*, raréfaction des *fibres élastiques* et augmentation du phénomène *de métachromasie de la substance fondamentale*.

Ces altérations sont plus ou moins accentuées selon la gravité et l'ancienneté de l'athérosclérose et nous avons distingué schématiquement :

a) Les artères de sujets jeunes ne présentant pas de dépôt athéromateux (lésions = o).

b) Les artères modérément altérées pour lesquelles le dépôt lipidique est sous-endothélial, la raréfaction des fibres élastiques et l'hypertrophie de l'intima restant discrètes, (lésions +).

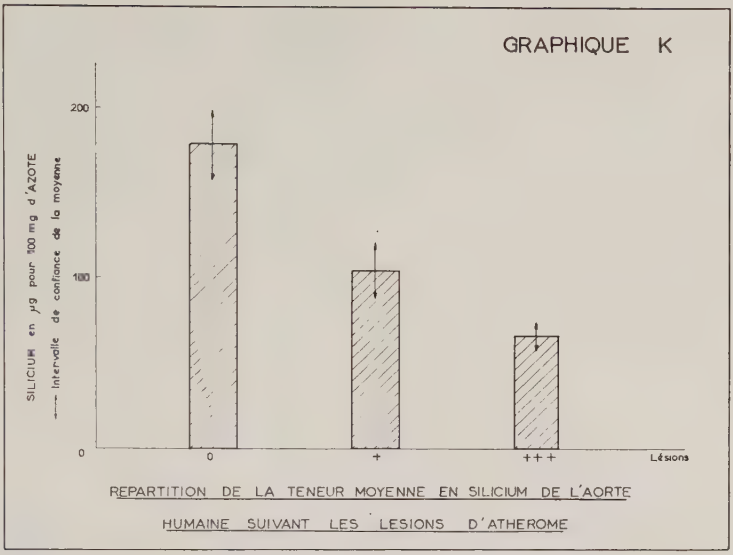
c) Les artères fortement altérées pour lesquelles le dépôt lipidique, associé à une surcharge calcique, englobe *l'intima* et la *média* avec dislocation des fibres élastiques et augmentation importante de la substance fondamentale qui présente une forte métachromasie (lésions +++).

Sur des artères présentant ces divers stades d'altération, nous avons dosé le silicium et constaté qu'il y avait une chute des teneurs d'autant plus importante que les lésions étaient plus marquées. Avec des lésions modérées la chute est déjà significative (105 µg) ; elle est très marquée dans les cas des lésions sévères : 63 µg pour 100 mg d'azote au lieu de 180 µg pour les aortes normales.

TABLEAU XVII

EVOLUTION DES TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE CHEZ L'HOMME EN FONCTION DES LESIONS ATHEROMATEUSES

Catégorie	Nombre de cas examinés	Teneurs moyennes en silicium en µg pour 100 mg d'azote
Lésions O	19	180 ± 21
Lésions + ...	28	105 ± 12
Lésions +++	22	63 ± 8



La teneur moyenne en silicium de l'aorte s'abaisse proportionnellement aux lésions d'athérome

La différence est très significative entre le groupe des lésions 0 et le groupe des lésions + avec un coefficient t de 6,5, très significative aussi entre le groupe des lésions + et le groupe des lésions +++ avec un coefficient t de 5,3.

RAPPORT ENTRE AGE, LÉSIONS ET SILICIUM :

L'intérêt du tableau XVII est qu'il rassemble dans la catégorie lésions 0 les aortes vérifiées histologiquement, ne présentant aucune lésion pour des sujets d'âges divers. Cette catégorie comporte les examens pratiqués sur cinq nourrissons, huit enfants de 1 à 10 ans, trois sujets de 10 à 30 ans, deux de 40 ans, et un de 60 ans. La moyenne du silicium est de 180 µg pour 100 mg d'azote.

Les lésions modérées (+) sont représentées par les aortes de quatre sujets de 10 à 20 ans, quatre de 20 à 30 ans, six de 30 à 40 ans, et quatorze ayant dépassé 40 ans, la moyenne du silicium est de 105 µg entre ces diverses tranches d'âge. Les différences ne sont pas statistiquement significatives entre ces diverses tranches d'âge et il existe des chevauchements qui s'expliquent par la difficulté de comparer les segments prélevés et d'estimer les altérations, lesquelles sont peu marquées, et dont l'influence peut interférer avec celle de l'âge. Il faut ici insister sur le fait que

les prélèvements ne peuvent être tout à fait homologues le long d'un vaisseau, et que le dosage de silicium ne peut être pratiqué exactement à l'endroit où la coupe histologique a été faite. Autant de difficultés qui compliquent l'étude d'un tissu à la fois sur le plan chimique et sur le plan anatomopathologique, et qui sont de nature à expliquer la variabilité de certains chiffres que nous avons relevés.

Dans les catégories des lésions graves (+++) où la moyenne du silicium est de 63 µg pour 100 mg d'azote, les aortes proviennent toutes de sujets ayant dépassé 50 ans. Quelques dosages de lipides totaux, pratiqués par la technique de DELSAL sur des artères accusant des lésions lors de l'examen anatomopathologique, nous ont montré que le taux de lipides peut être sensiblement normal alors que le silicium présente déjà une chute nette ; il n'y a donc pas de parallélisme entre une augmentation de lipides et une chute de silicium.

L'infiltration lipidique ne nous paraît pas le phénomène causal, caractéristique des artères athéromateuses ; elle prend place plus ou moins nettement parmi une série d'altérations précédemment décrites. Selon nous, par contre, la chute du taux du silicium se présente comme un phénomène précoce, révélateur des modifications profondes subies par certains constituants des parois et il est possible que le silicium intervienne directement dans le maintien des propriétés physiologiques des grosses artères. Nous y reviendrons après nos expériences sur l'athérome expérimental.

III. — DISCUSSION DES RÉSULTATS ET CONCLUSIONS

1° En ce qui concerne l'influence de l'âge, il est admis et prouvé que, dès le jeune âge, il se produit des modifications des parois des grosses artères, notamment de l'aorte, modifications qui évoluent sans cesse au cours du vieillissement et en l'absence de toute lésion pathologique reconnue ; il s'ensuit une diminution de l'élasticité. Il n'a pas été précisé si le facteur en cause est la diminution du pourcentage des fibres d'élastine ou si ce sont les propriétés elles-mêmes de l'élastine qui évoluent.

Il est certain que l'influence d'autres facteurs peut perturber l'évolution normale due au vieillissement lui-même : facteurs héréditaires, nutritionnels, hormonaux, conditions de vie, ce qui explique les différences constatées

dans le comportement des divers sujets au point de vue de leur système artériel et aussi des teneurs en silicium trouvées par nous.

2° En ce qui concerne l'influence du sexe qui se manifeste de façon sensible sur les teneurs en silicium des aortes, il peut *a priori* sembler en contradiction avec l'hypothèse faite au départ que ce soit chez l'homme que ces teneurs soient les plus élevées, puisque aussi bien les lésions athéromateuses sont plus fréquentes chez l'homme que chez la femme ; mais il est établi que l'aorte de l'homme est plus riche en fibres élastiques que celle de la femme et nous verrons plus loin que ce constituant des parois aortiques est très riche en silicium, de telle sorte que les différences constatées entre les deux sexes sont, pensons-nous, attribuables à la constitution même de l'aorte.

3° Enfin, le rapport constant entre l'abaissement du silicium aortique et l'ampleur des lésions d'athérome est certain, mais il est évident que, plus l'âge avance, plus la fréquence des lésions est grande et il y a là une synergie certaine des deux facteurs ; cet abaissement du taux du silicium n'est pas une conséquence de la surcharge lipidique qui accompagne souvent les lésions puisque, pour des lésions très modérées, et des infiltrations lipidiques très faibles, il se révèle déjà de façon très nette ; l'histologie montre que de 5 à 10 ans il peut exister déjà une légère hyperplasie de l'intima et une métachromasie de la substance fondamentale sans dépôt lipidique ; de 10 à 40 ans apparaît, en plus des modifications précédemment décrites, une tendance à la dislocation et à la raréfaction des fibres élastiques, s'accompagnant seulement parfois d'une infiltration modérée de lipides dans l'intima, par plages que limitent des zones saines ; nous en avons noté dans quatre cas sur sept prélèvements faits sur de nombreux sujets de 10 à 20 ans et dans treize cas sur vingt aortes de sujets ayant de 20 à 40 ans.

De tout ceci ressort la difficulté, hormis les cas d'athérome nettement constatés, d'obtenir de vrais témoins ; néanmoins les indications données semblent intéressantes et nous avons tenté de les confirmer dans le chapitre suivant en nous adressant à l'animal.

CHAPITRE V

Examen de l'influence de quelques facteurs sur les teneurs en silicium du tissu aortique du rat et du lapin

Nous avons dans ce chapitre rapporté quelques résultats concernant l'influence de l'âge sur les teneurs en silicium de l'aorte chez le rat et le lapin. Nous voulions, par quelques dosages, voir si on retrouvait chez ces espèces ce qui avait été vu chez l'homme.

Nous avons également résumé brièvement les résultats d'expériences préliminaires dont le but était de voir si les teneurs en silicium et calcium du régime alimentaire avaient une répercussion nette sur les teneurs en silicium de quelques tissus, et notamment du tissu artériel ; nous verrons que nos expériences ne permettent pas de conclure.

I. — EXPÉRIENCES CONCERNANT LE RAT

1° INFLUENCE DE L'AGE SUR LA TENEUR EN SILICIUM DE L'AORTE :

Les rats étaient des rats mâles de souche Wistar ; nous en avons sacrifié dix à l'âge de 3 mois (poids moyen 140 g) et quinze à l'âge de 10 mois (poids moyen 250 g) : les résultats sont nets, le taux de silicium est beaucoup plus élevé chez le jeune animal, il s'abaisse de 50 % quand le rat passe de l'âge de 3 mois à celui de 10 mois :

	Moyenne du silicium en µg pour 100 mg d'azote du tissu aortique
Rats de 3 mois	274 ± 24
Rats de 10 mois	140 ± 14

La dispersion des résultats est relativement faible ; cela doit-il être attribué au fait que les rats soumis à un régime normal ne présentent pas, même lorsqu'ils sont plus âgés, de lésions aortiques et que, chez eux, il n'y a pas d'interférence entre les facteurs âge et altérations athéromateuses ?

2° INFLUENCE DE LA TENEUR DU RÉGIME EN SILICIUM ET CALCIUM SUR LE SILICIUM DE QUELQUES TISSUS :

a) *Influence de la teneur en silicium.*

Tous les rats étaient des mâles âgés de 3 mois soumis dès le sevrage au même régime n° 1 (aliment complet pour

rats, Provende M 25 de Pietrement) qui contient 24 % de protéines, 4,5 % de lipides, 6,5 % de substances cellulosiques, 9 % de minéraux, et 56 % de glucides ; nous avons établi que la teneur en silicium de ce régime n° 1 est élevée, 21 mg pour 100 g.

Un mois avant le sacrifice, un lot de 9 rats reçoit un régime comportant du pain, des carottes et de la salade (régime n° II) dont l'analyse nous a montré qu'il est pauvre en silicium, moins de 1 mg pour 100 g ; le tableau XVIII montre que la teneur en silicium du régime ne commande pas celle des tissus en cet élément ; on voit même que certains organes de rats soumis au régime pauvre n° II contiennent davantage de silicium que les autres.

Nous verrons plus loin les critiques que l'on peut faire à ces expériences, lesquelles dans notre esprit, n'avaient qu'une valeur indicative.

TABLEAU XVIII

INFLUENCE DE LA TENEUR EN SILICIUM DU REGIME SUR CELLE DES ORGANES DU RAT
(valeurs moyennes en µg pour 100 mg d'azote de l'organe)

Organes	Nombre de rats		Régime I (21 mg de Si pour 100 g)	Régime II (0,4 mg de Si pour 100 g)
	Régime I	Régime II		
Tendon ...	10	9	106 ± 19	181 ± 34
Aorte	10	9	274 ± 24	304 ± 80
Pancréas .	7	6	60 ± 16	129 ± 48
Rate	4	4	21 ± 5	18 ± 4
Surrénales	4	4	108 ± 25	124 ± 47

Le tableau XVIII fait ressortir à nouveau la faible teneur de la rate en silicium, teneur constante avec une faible dispersion des chiffres ; on voit également que tendon et aorte restent les deux tissus les plus riches ; le régime n° II pauvre en silicium, ingéré pendant un mois, conduit à des teneurs en silicium du tendon de la queue environ deux fois plus grandes que celles des tendons de rats soumis au régime n° I ; si les chiffres sont dispersés autour de la moyenne, ils ne se recouvrent pas d'un régime à l'autre et le phénomène est net ; il en va de même pour le pancréas.

b) *Influence de la teneur en calcium.*

Comme précédemment, comparativement au lot de dix rats témoins recevant le régime n° I, un lot de dix rats a été soumis durant un mois au même régime additionné d'une quantité de gluconate de calcium à 2 % représentant 30 mg de Ca pour 100 g de régime. Nous avons constaté que cette surcharge calcique provoquait une chute nette et significative de la teneur en silicium de l'aorte du rat (175 µg ± 71 au lieu de 274 ± 24) ; pour le tendon de la queue, la chute n'est pas significative (91 ± 21 au lieu de 106 ± 19).

Il serait intéressant de reprendre ces expériences mais nous ne saurions tirer de conclusion de ces quelques données d'orientation ; nous y reviendrons à la fin du chapitre.

II. — EXPÉRIENCES CONCERNANT LE LAPIN

1° INFLUENCE DE L'AGE SUR LA TENEUR EN SILICIUM DU TISSU AORTIQUE :

Les lapins provenaient de l'élevage du zoo de Vincennes et étaient considérés comme de même race ; huit ont été sacrifiés à l'âge de 3 mois lorsqu'ils pesaient environ 800 g et dix à 6 mois lorsque ce poids avait doublé en moyenne. Contrairement à ce que nous avions constaté pour le rat, dans les conditions expérimentales où se trouvaient placés nos lapins, nous n'avons trouvé aucune influence de l'âge sur le silicium du tissu aortique (493 ± 93 et 503 ± 75) ; il convient de noter la dispersion des résultats dans les deux groupes de lapins, plus grande qu'elle n'était chez les rats ; doit-on invoquer la fréquence des lésions athéromateuses chez cette espèce ? D'autre part, la teneur en silicium est ici très élevée ; nous pensons qu'elle tient à la différence de constitution dans la paroi de l'aorte chez ces deux espèces.

2° INFLUENCE DE LA TENEUR EN SILICIUM DU RÉGIME SUR LE SILICIUM DE QUELQUES TISSUS :

Tous les lapins étaient adultes et avaient été soumis dès le sevrage à un régime commercial (aliment composé vitaminé pour le lapin de Sanders) dont la composition est la suivante : 15 % de protéines et substances azotées, 3 % de lipides, 15 % de substances cellulosiques, 9 % de minéraux et 58 % de glucides. Le dosage du silicium montre qu'il y a 33 mg de silicium pour 100 g de régime (régime S 1).

Deux mois avant le sacrifice, un lot de neuf lapins a été soumis à un régime pauvre en silicium, où le dosage accusait une teneur en silicium de 1,1 mg pour 100 g de régime, régime S 2 analogue au régime II administré aux rats, composé de pain, carottes, salade. Les résultats sur quelques tissus figurent au tableau XIX.

TABLEAU XIX

INFLUENCE DE LA TENEUR EN SILICIUM DU REGIME SUR CELLE DES ORGANES DU LAPIN
(valeurs moyennes en µg pour 100 mg d'azote du tissu)

Organes	Nombre de lapins		Régime S 1 (33 mg de Si pour 100 g)	Régime S 2 (1,1 mg de Si pour 100 g)
	Régime S 1	Régime S 2		
Aorte	10	9	503 ± 75	347 ± 36
Cornée ...	10	9	400 ± 58	120 ± 32
Foie	10	9	39 ± 18	39 ± 26
Cœur	10	9	18 ± 15	20 ± 9
Rein	10	9	14 ± 4	18 ± 5

Ce tableau montre que contrairement à ce qui se passait chez le rat, la carence en silicium du régime a retenti sur les teneurs en cet élément du tissu aortique et de la cornée du lapin, chute importante de 30 % dans le premier cas, de 70 % dans le second cas.

III. — CONCLUSIONS

Alors que chez le rat, la chute de la teneur en silicium de l'aorte avec l'âge est nette, le même phénomène n'a pu être saisi pour un vieillissement analogue chez le lapin.

Nous avons d'autre part constaté par quelques expériences d'orientation, que le passage pour le rat d'une alimentation riche en silicium à un régime pauvre en silicium, loin de provoquer un abaissement de la teneur des organes en cet élément, a produit une augmentation nette pour le tendon de la queue et le pancréas. Par contre une surcharge calcique du régime riche en silicium a conduit à une diminution significative de la teneur en silicium de l'aorte du rat.

Chez le lapin, il y a pour les deux tissus riches en silicium — aorte et cornée — une chute importante de la teneur lorsque le lapin ingère pendant deux mois un régime pauvre en silicium ; donc ici, le comportement est assez conforme à ce que l'on attendait.

Il est évident que ces expériences ne peuvent être interprétées de façon claire ; en effet nos régimes riches ou pauvres en silicium sont totalement différents ; les faits constatés chez le rat pourraient s'expliquer par le fait que le régime commercial riche en silicium est aussi très riche en substances cellulosiques et que le silicium peut n'être pas « libéré » au cours des phénomènes digestifs chez cet omnivore, tandis que la flore du lapin attaque les substances cellulosiques.

Nous pensons reprendre ces expériences en utilisant pour les deux espèces des régimes semi-synthétiques de base pauvres en silicium, celui-ci étant ajouté à ce même régime pour en suivre la fixation dans les tissus intéressants : aorte, tendon, cornée. De plus ces deux régimes seront administrés aux deux lots de rats ou de lapins dès le sevrage. Nous espérons pouvoir ainsi interpréter les résultats rapportés dans ce mémoire.

CHAPITRE VI

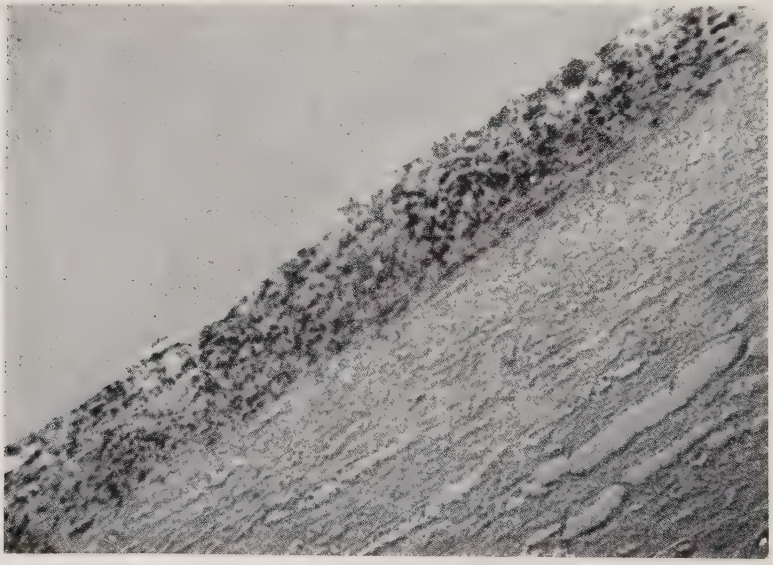
Variations du silicium aortique du lapin au cours de l'athérome expérimental

Influence du silicate de sodium et du silicate de lysine en injections

Nous avons vu dans le chapitre IV de ce mémoire que, chez l'homme, il y avait de fortes présomptions pour que les lésions artérielles athéromateuses s'accompagnent d'une chute des teneurs en silicium de ce tissu et d'autant plus nette que la lésion est plus sérieuse. Il est difficile de faire chez l'homme des investigations systématiques, c'est pourquoi nous avons pensé étudier l'athérome expérimental chez le lapin, espèce qui réagit à certains états nutritionnels ou hormonaux en présentant des lésions athéromateuses de l'aorte, difficiles par contre à obtenir chez le rat. Par ailleurs chez le lapin adulte normal, le tissu aortique présente une teneur élevée en silicium, avec cependant une certaine dispersion des valeurs qui peut s'expliquer par cette aptitude plus ou moins marquée à réagir aux états « de stress » et à présenter des débuts d'athérome.

Ce sont les résultats d'une telle expérimentation qui font l'objet de ce chapitre.

Les athéromes ont été provoqués soit par une surcharge en cholestérol d'un régime normal ou carencé en silicium et ingéré durant un à deux mois, soit par des injections intraveineuses répétées d'adrénaline. Nous avons aussi comparé les pourcentages en potassium et en calcium de



Ci-contre la photographie d'une coupe d'aorte de lapin athéromateux, avec dépôt lipidique au niveau de l'intima

l'aorte à ceux du silicium. Conjointement nous avons recherché l'action du silicate de sodium au cours de l'évolution de ces athéromes.

Le silicate de sodium est rapidement absorbé ; KING, STANTIAL et DOLAN avaient déjà montré qu'il apparaissait dans l'urine au bout de deux heures, que la silice sanguine augmentait dans des proportions modérées mais que les organes d'animaux ayant reçu des doses renouvelées de silicate de sodium en présentaient une forte proportion.

L'administration du silicate de sodium a été faite soit par voie buccale à la dose de 300 mg par jour soit par voie veineuse : la voie sous-cutanée est en effet impraticable car elle produit des états inflammatoires et des escarres ; par voie veineuse, le silicate de sodium peut être hémolytique si on utilise des doses fortes, mais chez le lapin il a été constaté que l'on peut donner sans effets toxiques une dose quotidienne allant jusqu'à 2 g ; dans nos expériences nous avons injecté au maximum à l'animal 1 à 2,5 cg sous forme d'une solution de silicate de sodium très pur, et aucun accident n'a été observé.

I. — ÉTUDE DE L'ATHÉROME OBTENU PAR UNE SURCHARGE DU RÉGIME EN CHOLESTÉROL

INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION DE SILICATE DE SODIUM

1° EXPÉRIENCES AVEC UN RÉGIME DE BASE AYANT UNE « TENEUR » NORMALE EN SILICIUM :

A) *Durée d'administration du régime : un mois.*

Nous avons pris trois lots de quatre lapins adultes :

Le premier lot constituait le lot témoin (lot 1) ;

Le second lot recevait chaque jour *per os* 0,75 g de cholestérol émulsionné dans de l'huile d'arachide (lot 2) ;

Le troisième lot recevait cette même quantité de cholestérol et en outre, tous les trois jours, une injection de 1 cg de silicate de sodium par voie veineuse et par voie buccale 200 mg de silicate de sodium (lot 3).

Le régime commun aux trois lots était un régime commercial normal, riche en silicium et contenant :

15 % de matières azotées.
3 % de matières grasses.
15 % de matières cellulosiques.
9 % de matières minérales.
58 % de matières glucidiques.

Un des animaux du lot 2 est mort rapidement ; les autres ont été sacrifiés en même temps après trente jours.

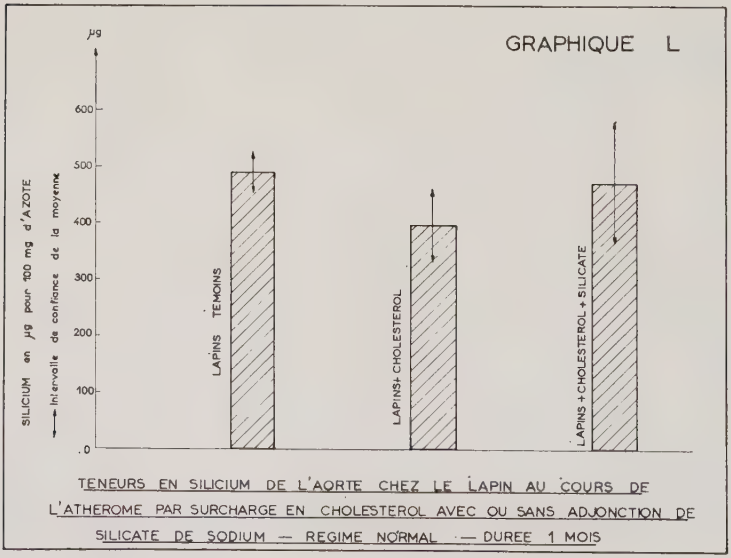
Les résultats sont consignés dans le tableau XX et le graphique L.

TABLEAU XX

TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE CHEZ LE LAPIN
AU COURS DE L'ATHEROME
PAR SURCHARGE EN CHOLESTEROL
AVEC OU SANS ADJONCTION DE SILICATE DE SODIUM
REGIME NORMAL - DUREE : UN MOIS

Silicium moyen en µg pour 100 mg d'azote

Lot 1 Témoins	Lot 2 + Cholestérol	Lot 3 + Cholestérol + Silicate de Na
4 lapins	4 lapins	4 lapins
490 ± 40	398 ± 66	470 + 160



Les lapins qui ne reçoivent que du cholestérol ont une teneur en silicium aortique diminuée par rapport à celle des témoins ; le silicate de sodium empêche cette diminution

Résultats : a) *Teneurs en silicium de l'aorte :* la teneur moyenne du silicium aortique des lapins du lot 2 a baissé par rapport à celle des témoins de 490 µg à 398 µg et les deux moyennes diffèrent significativement avec un coefficient t de 3,1, le pourcentage du potassium est pratiquement inchangé, celui du calcium n'est très augmenté que chez un lapin.

Dans le lot 3, le taux moyen du silicium n'est pas abaissé comme chez les lapins ayant reçu le cholestérol seul : il est de 470 µg, donc du même ordre que celui des témoins ; celui du potassium est considérablement élevé ; celui du calcium reste normal, sauf dans un cas où il atteint 3,10 mg pour 100 mg d'azote, ce lapin était le seul qui présentait à l'examen histologique une infiltration graisseuse de l'intima.

b) *Examens anatomo-pathologiques :* les lapins du lot 2 présentent tous un foie gras classique, jaune, hypertrophié, des aortes lésées avec infiltrations lipidiques. Sur quatre lapins du lot 3, trois présentent des foies et des aortes normaux ; le dernier montre une région sous-endothéliale infiltrée de graisse.

c) *Conclusion :* le cholestérol a produit un athérome net avec altération des fibres élastiques et infiltrations graisseuses chez les lapins non traités par le silicate de sodium ; chez eux, la teneur en silicium aortique est considérablement réduite. Le silicate de sodium a manifesté, par contre, chez trois lapins sur quatre, une action préventrice vis-à-vis des désordres athéromateux.

B) *Durée d'ingestion du régime, deux mois :*

Cette expérience est analogue à la précédente mais elle a été prolongée durant deux mois et d'autre part les injections de silicate de sodium sont moins importantes.

Nous avons pris trois lots de quatre lapins :

Le premier lot constituait le lot témoin (lot 1).

Les lapins du second lot recevaient chaque jour 0,50 g de cholestérol émulsionné dans de l'huile d'arachide (lot 2).

Ceux du lot 3 recevaient, outre le cholestérol, une injection intraveineuse de 1 cg de silicate de sodium tous les trois jours (lot 3).

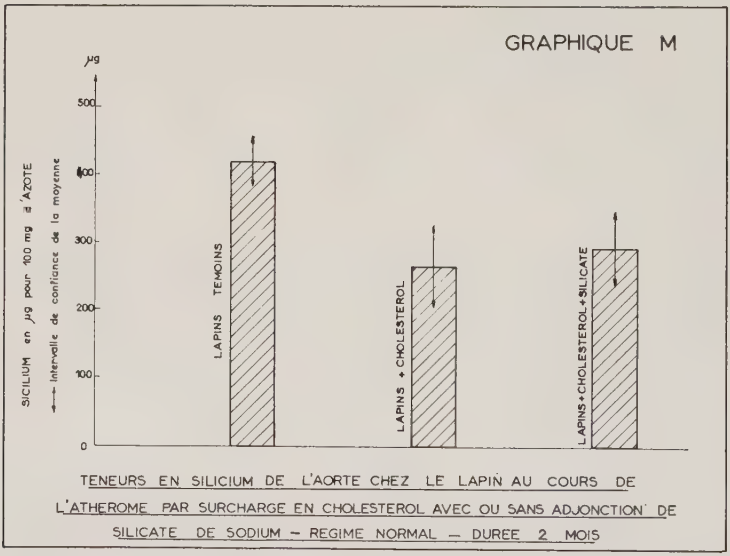
Le régime de base commun aux trois lots était comme précédemment un régime dit normal ; les lapins ont été sacrifiés après soixante jours. Les résultats sont consignés dans le tableau XXI et le graphique M.

TABLEAU XXI

TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE CHEZ LE LAPIN
AU COURS DE L'ATHEROME
PAR SURCHARGE EN CHOLESTEROL
AVEC OU SANS ADJONCTION DE SILICATE DE SODIUM
REGIME NORMAL - DUREE : DEUX MOIS

Silicium moyen en µg pour 100 mg d'azote

Lot 1 Témoins	Lot 2 + Cholestérol	Lot 3 + Cholestérol + Silicate de Na
4 lapins	4 lapins	4 lapins
430 ± 41	266 ± 60	291 ± 53



Les lapins qui ne reçoivent que du cholestérol ont une teneur en silicium aortique très diminuée par rapport à celle des témoins ; le silicate de sodium réduit légèrement cette diminution

Résultats : a) *Teneurs en silicium de l'aorte :* la teneur en silicium aortique a considérablement baissé chez les animaux du lot 2, où elle est de l'ordre de 266 µg au lieu de 430 chez les témoins ; dans le lot 3 la chute est du même ordre : 291 µg au lieu de 430 ; on voit qu'il n'existe qu'une faible différence entre les deux lots traités ; la différence est significative entre le lot témoin et le lot 2 avec un t de 3, significative aussi entre le lot témoin et le lot 3 traité par

le silicate de sodium avec un t de 2,8, non significative entre les deux lots traités 2 et 3. Le taux du calcium varie peu.

b) *Examens anatomo-pathologiques :* sur les aortes des quatre lapins qui ont reçu seulement du cholestérol, une aorte présente des lésions moyennes ; les autres montrent des lésions marquées, avec de petits dépôts graisseux sous-endothéliaux ; toutes révèlent une altération importante des fibres élastiques, qui sont fragmentées ou raréfiées.

Dans le lot des lapins ayant reçu du cholestérol et du silicate de sodium, une aorte présente encore de graves lésions, une autre des lésions peu importantes, deux sont tout à fait normales, sans dépôts lipidiques et sans altération des fibres élastiques.

c) *Conclusion :* le cholestérol a produit un athérome net avec une importante chute de la teneur en silicium de l'aorte ; mais lorsque les animaux ingèrent un régime enrichi en cholestérol durant deux mois, l'action préventive du silicate de sodium n'est pas constante pour la dose que nous avons utilisée.

2° EXPÉRIENCES FAITES AVEC UN RÉGIME DE BASE CARENCÉ EN SILICIUM :

L'ingestion du régime carencé en silicium, essentiellement constitué de pain, carottes et salades, a été poursuivi pendant quarante-cinq jours pour tous les lots de lapins.

Le lot témoin (lot 1) comportait six lapins, il a été utilisé pour les diverses comparaisons.

Les lots 2 et 3 comportaient respectivement six et quatre lapins qui ont ingéré, outre le régime carencé, 0,50 g de cholestérol par jour pour le lot 2 et 0,75 g pour le lot 3.

Le lot 4 comptait six lapins recevant chaque pour 0,50 g de cholestérol, et 200 mg de silicate de sodium par voie buccale et en plus tous les trois jours une injection intraveineuse de 1 cg de silicate de sodium.

Le lot 5 comptait cinq lapins qui, outre le cholestérol à la dose de 0,75 g par jour, ingéraient 1 cg de silicate de lysine.

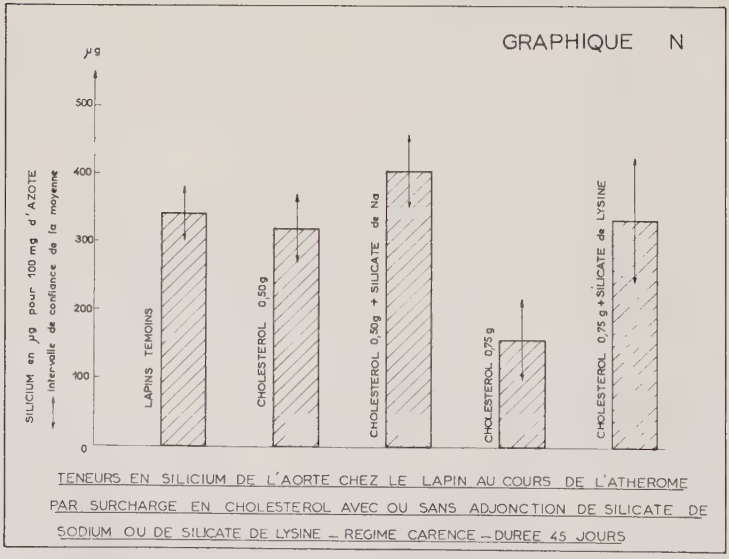
Notons que tous les lapins supportèrent assez mal le régime pauvre en silicium et présentèrent des signes de carence alimentaire. Les résultats sont consignés dans le tableau XXII et le graphique N.

TABLEAU XXII

TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE CHEZ LE LAPIN AU COURS DE L'ATHEROME PAR SURCHARGE EN CHOLESTEROL AVEC OU SANS ADJONCTION DE SILICATE DE SODIUM ET DE SILICATE DE LYSINE

REGIME CARENCE - DUREE : 45 JOURS

Catégorie	Nombre de lapins	Silicium moyen en µg pour 100 mg d'azote
Lot 1 ..... Témoins	6	354 ± 39
Lot 2 ..... + Cholestérol 0,50 g	6	318 ± 49
Lot 3 ..... + Cholestérol 0,75 g	4	158 ± 61
Lot 4 ..... + Cholestérol 0,50 g + Silicate de Na	6	409 ± 53
Lot 5 ..... + Cholestérol 0,75 g + Silicate de lysine	5	334 ± 92



Les lapins qui ne reçoivent que du cholestérol ont une teneur en silicium aortique diminuée par rapport à celle des témoins ; le silicate de sodium et le silicate de lysine empêchent cette diminution

Résultats :

a) *Teneurs en silicium de l'aorte.*

Dans le lot témoin les aortes présentent une teneur moyenne en silicium de 354 µg pour 100 mg d'azote, un taux moyen de potassium de 1 020 µg et un taux moyen de calcium de 1 220 µg.

Nous avons constaté une légère baisse du silicium de l'aorte chez les lapins du lot 2, mais la différence des moyennes n'est pas statistiquement significative entre le lot témoin et le lot 2 avec un coefficient t de 1,16.

Les lapins qui, outre 0,50 g de cholestérol, recevaient du silicate de sodium (lot 4) présentaient un taux de silicium normal ; en effet, celui-ci s'est abaissé à 318 µg pour le lot 2 et est monté à 409 µg pour le lot 4, la différence des moyennes est significative ici entre le lot 2 et le lot 4, ce qui prouve une action favorable du silicate de sodium ($t = 2,7$) ; le potassium de l'aorte a diminué fortement dans les deux lots traités, mais de façon plus progressive que le silicium ; le calcium a augmenté de façon progressive dans le lot 2 et de façon inégale dans le lot 4.

Dans le lot 2, nous avons dosé le silicium sanguin qui était en moyenne de 2,70 mg 0/00 et le cholestérol sanguin qui était en moyenne de 6 g 0/00. Dans le lot 4, le silicium sanguin était en moyenne de 5,50 mg 0/00 et le cholestérol atteignait 10 g 0/00.

L'on voit par là que la baisse du silicium du lot 2 ne correspondait pas à une teneur très élevée en cholestérol sanguin.

Le taux moyen du silicium aortique a très fortement et rapidement baissé chez les lapins du lot 3, de 354 µg à 158 µg ; les lapins du lot 5 qui outre 0,75 g de cholestérol, recevaient du silicate de lysine, présentaient un taux de silicium identique à celui des témoins, presque légèrement supérieur ; les moyennes sont hautement significatives entre le lot témoin et le lot 3, et entre le lot 3 et le lot 5 avec des coefficients respectifs de 6,1 et 6,8.

b) *Examens anaomo-pathologiques.*

Au point de vue histologique, nous avons constaté :

Dans le lot 2 : deux aortes d'aspect normal et quatre aortes altérées avec augmentation du tissu conjonctif, raréfaction des fibres élastiques, infiltration lipidique.

Dans le lot 4 : quatre aortes d'aspect normal dont une seule avec une légère raréfaction des fibres élastiques, une

aorte avec une petite infiltration lipidique et une aorte lésée, avec une hyperplasie conjonctive et des plaques athéromateuses.

Dans le lot 3, tous les lapins, sauf un, présentaient des dépôts lipidiques, une hyperplasie conjonctive et une dislocation des fibres élastiques.

Dans le lot 5 des lapins traités par le silicate de lysine, les aortes de quatre lapins sur cinq montraient des fibres élastiques tout à fait normales ; une seule avait de légers dépôts lipidiques ; l'aorte du cinquième lapin était assez fortement lésée.

c) *Conclusion.*

On peut dire que l'athérome par une surcharge en cholestérol provoque une chute de la teneur en silicium et en potassium de l'aorte, celle du silicium étant très rapide, dès les premières atteintes athéromateuses ou même avant elles, en même temps qu'une légère augmentation du taux de calcium.

Les résultats ne sont pas tous significatifs, mais le régime alimentaire étant carencé en silicium, il faut tenir compte du fait que les témoins avaient déjà une teneur en silicium perturbée et plus basse que normalement.

Le silicate de sodium par voie buccale et veineuse diminue la fréquence de l'athérome ; il en retarde surtout l'apparition, et conjointement il réduit la chute du taux de silicium et de potassium de l'aorte.

Le silicate de lysine semble se fixer dans l'organisme du lapin en rétablissant à une valeur normale le silicium fortement abaissé par la surcharge en cholestérol ; il agit en particulier sur l'intégrité des fibres élastiques, plus peut-être qu'il n'empêche le dépôt lipidique.

II. — ÉTUDE DE L'ATHÉROME OBTENU PAR INJECTIONS D'ADRÉNALINE INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION DE SILICATE DE SODIUM

Nous avons, dans cette expérience, provoqué un athérome post-adrénalinique et étudié l'action préventive du silicate de sodium par voie veineuse.

Les lapins ont ingéré un régime de base normal, et le traitement a été de un mois.

Nous avons pris cinq lots de lapins :

Un lot témoin de quatre lapins (lot 1).

Un lot de quatre lapins, qui reçurent tous les deux jours, pendant trente jours, 0,06 mg d'adrénaline par voie intraveineuse (lot 2).

Un lot de quatre lapins qui reçurent tous les deux jours, pendant trente jours, 0,06 mg d'adrénaline et une injection de 2,5 cg de silicate de soude, par voie intraveineuse (lot 2 *bis*).

Un lot de quatre lapins, qui reçurent tous les deux jours, pendant trente jours, 0,12 mg d'adrénaline par voie intraveineuse (lot 3).

Un lot de quatre lapins, qui reçurent tous les deux jours, pendant trente jours, 0,12 mg d'adrénaline et une injection de 2,5 cg de silicate de sodium par voie intraveineuse (lot 3 *bis*).

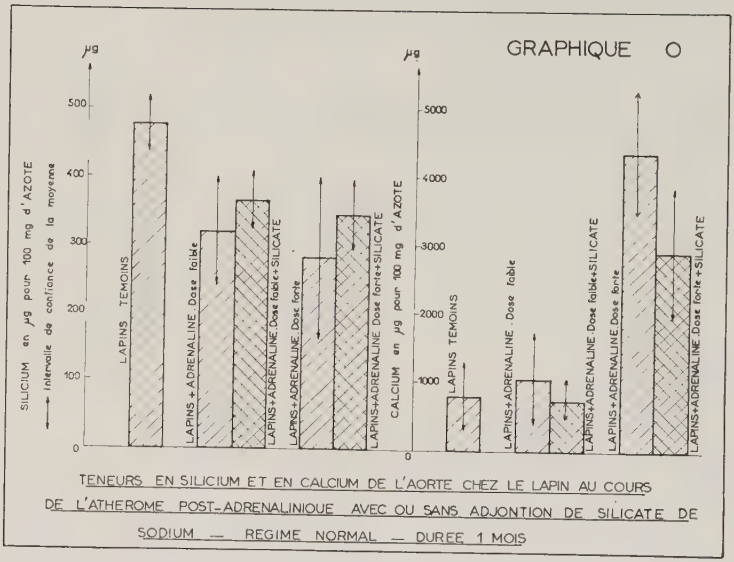
Les lapins furent sacrifiés en même temps et les résultats sont consignés dans le tableau XXIII et le graphique O.

TABLEAU XXIII

TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE CHEZ LE LAPIN AU COURS DE L'ATHEROME POST-ADRENALINIQUE AVEC OU SANS ADJONCTION DE SILICATE DE SODIUM

REGIME NORMAL - DUREE : UN MOIS

Catégorie	Nombre de lapins	Moyennes des teneurs en silicium en µg pour 100 mg d'azote
Lot 1 ..... Témoins	4	490 ± 40
Lot 2 ..... + Adrénaline 0,06 mg	4	321 ± 72
Lot 2 *bis* ..... + Adrénaline 0,06 mg + Silicate de Na	4	365 ± 43
Lot 3 ..... + Adrénaline 0,12 mg	4	283 ± 120
Lot 3 *bis* ..... + Adrénaline 0,12 mg + Silicate de Na	4	350 ± 52



Les lapins qui ne reçoivent que de l'adrénaline ont une teneur en silicium aortique très diminuée et une teneur en calcium très augmentée par rapport à celles des témoins, surtout quand l'adrénaline est administrée à dose forte ; le silicate de sodium réduit ces variations

Résultats : a) *Teneurs en silicium de l'aorte :* les lapins du lot 2, qui reçoivent une faible quantité d'adrénaline, ont déjà une teneur en silicium aortique abaissée, 321 µg par rapport à 490 chez les témoins ; la différence est significative entre le lot témoin et le lot 2, avec un coefficient t de 4,8 ; le potassium artériel est peu changé, de même que le calcium.

L'adjonction du silicate de sodium est sans effet, et la différence n'est pas significative, entre les lots 2 et 2 *bis* ($t = 1,4$).

Les lapins du lot 3, recevant une dose d'adrénaline double de celle des précédents, ont un taux de silicium considérablement abaissé à 283 µg, avec une dispersion de résultats assez grande ; la différence entre les moyennes des deux lots (lot témoin et lot 3) est très significative, avec un coefficient t de 4,8. Le taux du silicium est un peu moins abaissé chez ceux qui reçoivent en plus du silicate de sodium. Mais la différence des moyennes n'est pas significative entre les lots 3 et 3 *bis* ($t = 1,4$).

Les dosages du calcium montrent une très forte hausse de cet élément au cours de l'athérome adrénalinique, hausse

qui est retardée ou quelque peu empêchée par le silicate de sodium.

b) *Examens anatomo-pathologiques :* l'examen histologique a permis de mettre en évidence des lésions d'athérome post-adrénalinique. Rappelons que celui-ci est différent de l'athérome par régime riche en cholestérol ; il est essentiellement caractérisé par l'existence de plaques fibrocalcaires avec altération des fibres élastiques, mais les dépôts lipidiques sont absents ou discrets.

Cet examen histologique a révélé, sur les lapins du lot 2, deux aortes normales et deux aortes assez altérées, présentant des lésions d'intensité moyenne, avec quelques plaques fibrocalcaires ; sur les lapins du lot 2 *bis,* deux aortes normales et deux aortes lésées avec les mêmes lésions.

Sur les lapins du lot 3, beaucoup plus gravement atteints, toutes les aortes étaient très altérées, avec chacune quatre à cinq grosses plaques fibrocalcaires, tandis que, sur le lot 3 *bis,* les plaques étaient moins nombreuses, deux à trois, et il y avait même une aorte restée normale.

c) *Conclusion :* l'athérome post-adrénalinique provoque une chute très importante de la teneur en silicium de l'aorte, proportionnelle à la gravité de la fibrose, et un accroissement de la teneur en calcium qui va de pair aussi avec la gravité de l'athérome.

L'administration du silicate de sodium diminue l'atteinte athéromateuse, sans qu'on puisse relever un effet constant sur le taux moyen des constituants tissulaires ; mais, les résultats étant très dispersés, il faut tout de même remarquer son action favorable dans un cas et son action freinatrice des lésions dans les autres cas.

III. — CONCLUSIONS

Le fait le plus saillant qui ressort de ces expériences est la chute de la teneur en silicium de l'aorte chez les lapins atteints d'athérome ; la baisse du potassium et la hausse du calcium parfois, traduisent aussi la gravité des lésions athéromateuses, mais la chute du silicium est plus précoce et précède toujours ces deux autres phénomènes ; elle se manifeste dès les premières atteintes de l'athérome ; au cours de l'athérome post-adrénalinique en particulier, le taux du silicium est diminué presque de moitié tandis que le taux du calcium est multiplié par trois et par cinq ; l'athérome

par surcharge en cholestérol maintient des variations de même ordre mais de moindre amplitude.

L'action du silicate de sodium, au point de vue de la prévention de l'athérome est inconstante : au cours de l'athérome par surcharge en cholestérol avec un régime normal contenant 0,75 g de cholestérol par jour, le silicate de sodium à la dose de 1 cg par voie intraveineuse et de 200 mg par voie buccale tous les trois jours pendant un mois, prévient les lésions d'athérome dans trois quarts des cas ; dans des conditions identiques mais avec un régime carencé en silice, son action est moins significative, les lésions semblent surtout retardées ; mais il est probable que la carence en silice est déjà un élément perturbateur qui, associé à l'athérome, ne permet pas à celui-ci de régresser facilement.

Lorsque la surcharge en cholestérol, même plus faible que précédemment, est poursuivie pendant deux mois au lieu de un et que le silicate de sodium n'est administré que par voie intraveineuse à la dose de 1 cg tous les trois jours, l'action préventive du silicate ne s'observe que dans la moitié des cas.

Au cours de l'athérome post-adrénalinique, le silicate de sodium injecté par voie intraveineuse tous les deux jours à la dose de 2,5 cg, a une action nettement favorable dans un quart des cas et une action freinatrice dans les autres cas.

Le silicate de lysine, autre forme de silice, administré à des lapins dont l'alimentation était carencée en silice, a eu un effet protecteur dans quatre cas sur cinq.

Quelle est l'action du silicate de sodium ?

Le Dr Schefler, en 1908, prétendait déjà que la silice serait un élément destructeur des carbonates et en particulier du carbonate de chaux. Au cours de l'athérome où l'encombrement calcaire est important par suite d'une élimination insuffisante du calcium, la silice serait peu à peu remplacée par le calcium et un manque de silice favoriserait la fixation du calcium.

Il est par conséquent logique de penser que l'absorption de silice par voie buccale ou veineuse, a le pouvoir de détruire le carbonate de chaux, d'en empêcher le dépôt et de redonner à l'artère son élasticité et sa vitalité.

Une partie de la silice absorbée est donc retenue dans l'organisme et assimilée rapidement comme le montrent les chiffres consignés dans les divers tableaux : alors que les animaux non traités par le silicate de sodium ont un

taux de silicium aortique abaissé, les animaux traités ont un taux qui se rapproche souvent de celui des témoins ; le silicium semble s'être fixé dans les tissus au moins lorsque la surcharge en cholestérol a été donnée pendant un mois ou quarante-cinq jours. Le silicate de sodium, de même que le silicate de lysine, n'empêche pas d'une façon constante les dépôts lipidiques de se produire, mais en général il conserve l'intégrité des fibres élastiques de l'artère. C'est cette constatation qui nous a paru la plus spectaculaire et qui nous a d'ailleurs amenés à étudier dans le chapitre suivant la composition en silicium du tissu élastique.

IV. — REMARQUES

Etant donné les résultats obtenus chez le lapin par injections d'adrénaline et l'influence complexe des hormones surrénaliennes sur les lésions artérielles, nous avons examiné ce que devient la teneur en silicium de l'aorte, d'une part chez le rat surrénalectomisé, d'autre part chez le rat ayant subi l'ablation des surrénales et auquel on injecte une hormone surrénalienne.

Nous avons pris trois lots de chacun neuf ou dix rats :

Un lot n° 1 de rats témoins.

Un lot n° 2 de rats surrénalectomisés.

Un lot n° 3 de rats surrénalectomisés ayant reçu tous les deux jours après l'ablation, 2 mg de 9-α-fluoro-16 méthyl-δ-hydrocortisone mélangée au régime et ceci durant quinze à vingt-cinq jours.

Avec la souche utilisée, l'ablation des surrénales n'a pas été très bien supportée par développement insuffisant des accessoires ; plusieurs rats sont morts dans les lots 2 et 3 au bout de quinze jours, et les survivants ont été sacrifiés au bout de vingt-cinq jours ; le silicium a été dosé dans l'aorte totale et dans le tendon de la queue.

En envisageant les résultats dans leur ensemble, on constate que la surrénalectomie est sans effet sur la teneur moyenne du silicium dans le tendon et l'aorte ; par contre après l'ablation des surrénales l'hormone cortisonique a tendance à faire baisser le silicium : mais dans le tendon où cette teneur passe de 105 µg à 86 µg, le calcul montre que la différence n'est pas significative ; elle l'est cependant pour l'aorte ou le chiffre moyen passe de 282 µg à 202 µg (tableau XXIV).

TABLEAU XXIV

TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE ET DU TENDON DE LA QUEUE CHEZ DES RATS SURRENALECTOMISES AYANT REÇU OU NON UNE HORMONE CORTISONIQUE

Catégorie	Nombre de rats	Moyennes des teneurs en silicium en µg pour 100 mg d'azote	
		Aorte	Tendon
Lot 1 ..... Témoins	9	264 ± 20	115 ± 26
Lot 2 ..... + Surrénalectomie	10	282 ± 34	105 ± 20
Lot 3 ..... + Surrénalectomie + Hormone cortisonique	9	202 ± 45	86 ± 11

Si maintenant nous examinons dans les lots 2 et 3 les groupes de rats qui sont morts après quinze jours et ceux qui ont été sacrifiés au bout de vingt-cinq jours, nous obtenons des résultats assez dispersés, mais où on peut néanmoins relever les faits suivants :

Dans le lot 2, la teneur en silicium tend à diminuer au fur et à mesure qu'on s'éloigne du jour où la surrénalectomie a eu lieu, elle est de 288 µg dans l'aorte au bout de quinze jours et de 270 µg au bout de vingt-cinq jours ; elle est de 120 µg dans le tendon au bout de quinze jours et de 83 µg au bout de vingt-cinq jours ; mais les moyennes générales se rapprochent de celles des témoins et on peut dire que la surrénalectomie n'a pas une action nette sur la valeur du silicium tissulaire (tableau XXV).

Dans le lot 3 la teneur en silicium de l'aorte a tendance elle aussi à baisser progressivement après la surrénalectomie et le traitement hormonal ; elle passe de 217 µg après quinze jours, chez des rats ayant reçu 15 mg d'hormone cortisonique à 195 µg après vingt-cinq jours chez des rats qui en ont reçu 25 mg. Pour le tendon le phénomène est inverse et le taux du silicium qui était de 79 µg au bout de quinze jours, remonte à 90 µg après vingt-cinq jours ; mais en définitive la moyenne générale de tous les cas n'est que légèrement inférieure à celle des témoins et le traitement par l'hormone

cortisonique ne semble pas améliorer l'atteinte faible apportée dans les teneurs en silicium par la surrénalectomie du rat.

TABLEAU XXV

TENEURS EN SILICIUM DE L'AORTE ET DU TENDON DE LA QUEUE CHEZ DES RATS SURRENALECTOMISES AYANT REÇU OU NON UNE HORMONE CORTISONIQUE. DOSAGES FAITS 15 ET 25 JOURS APRES L'OPERATION

Catégorie	Nombre de rats	Moyenne des teneurs en silicium en µg pour 100 mg d'azote	
		Aorte	Tendon
Lot 1 .....— Témoins	9	264 ± 20	115 ± 26
Lot 2 + Surrénalectomie			
15 jours après l'opération	5	288 ± 57	120 ± 27
25 jours après l'opération	4	270 ± 61	83 ± 27
Lot 3 + Surrénalectomie + Hormone cortisonique			
15 jours après l'opération	3	217 ± 21	79 ± 12
25 jours après l'opération	7	195 ± 80	90 ± 15

CHAPITRE VII

Localisation du silicium au niveau de l'aorte

PREMIERE PARTIE

DONNÉES SUR LA PAROI ARTÉRIELLE ET SES PRINCIPAUX CONSTITUANTS

Il s'imposait à nous d'examiner quelles sont la répartition et la localisation du silicium au sein des parois de l'aorte ; la localisation concerne-t-elle plus particulièrement les éléments musculaires, les lames et les fibres élastiques ou, ainsi que semblent l'indiquer nos résultats sur le tendon de la queue chez le rat, les fibres de collagène ? D'autre part le silicium est-il associé à un type défini de constituants lipides, protéines, mucoprotéines ? L'examen de ces questions nous conduit à résumer l'essentiel des connaissances actuelles sur la paroi de l'aorte et de ses constituants.

Du point de vue histologique, on distingue trois parties dont l'importance réciproque varie avec l'espèce considérée, l'âge du sujet et le niveau auquel on a fait la section du vaisseau à partir du cœur.

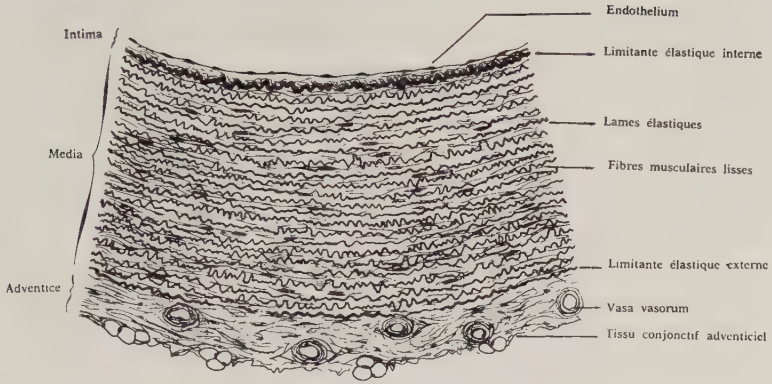
1° L'adventice surtout formée de collagène.

2° La média dans laquelle prédominent les lames et fibres élastiques sur lesquelles s'insèrent les fibres musculaires de caractère syncytial ; à ce réseau musculo-élastique se trouvent mélangés des éléments de collagène et de substance fondamentale.

3° L'intima également complexe, où, sous la couche endothéliale, on distingue des fibres du collagène puis une couche conjonctivo-élastique.

La figure ci-contre montre ces trois couches de la paroi aortique, la media étant séparée de l'adventice par la limitante élastique externe et de l'intima par la limitante élastique interne.

FIGURE 2



PAROI AORTIQUE (coupe tranversale)

Dès l'abord il convient de souligner que, malgré le grand nombre de publications, les informations sur la paroi aortique sont encore fragmentaires et il est notamment difficile de séparer les phénomènes dus à l'âge, au vieillissement, de ceux liés à des altérations métaboliques indépendants des premiers, mais survenant au cours de la vie ; autrement dit, il est difficile de distinguer ce qui relève d'une évolution physiologique normale et d'un état pathologique fruste. Ce n'est pas parce que la structure du tissu aortique est complexe, mais peut-être parce que les biologistes jusqu'à ces dernières années ne se sont pas intéressés à tous les aspects du problème.

Par contre, on possède de nombreuses données sur l'origine de certains constituants, leur composition chimique et leur rôle physiologique. Certaines de ces données nous intéressent directement, nous les résumons ci-dessous.

Constitution chimique globale de la paroi.

L'aorte humaine considérée comme normale contient (en pour 100 de poids sec de tissu) environ 25 à 30 pour 100 de *collagène*, 30 à 40 pour cent d'*élastine*, le reste, environ 30 à 40 pour 100, étant constitué par les *éléments musculaires* et la *substance fondamentale*.

Nous laisserons de côté l'étude des fibres musculaires qui, nous l'avons vu, ne sont pas très riches en silicium.

L'origine du collagène, de l'élastine et de la substance fondamentale ou basale est la même : ce sont les *fibroblastes*.

a) Les *fibroblastes* sont les principaux responsables de la formation du réticulum et de la substance fondamentale. Selon HALL et coll. (1955) ils synthétiseraient un précurseur protéique susceptible de donner soit le *collagène* soit l'*élastine ;* et à côté de ces deux types de protéines fibreuses ils synthétiseraient aussi les constituants spécifiques de la substance fondamentale (VERNE) : mucopolysaccharides et protéines globulaires ; autrement dit, leur capacité de synthèse est très grande et sans aucun doute il existe une remarquable adaptation de l'activité de leurs systèmes enzymatiques à la différenciation progressive et au rôle fonctionnel de la paroi aortique. La contribution des *mastocytes* dans la synthèse des matériaux extracellulaires est moins bien connue, mais il semble que ces cellules synthétiseraient l'héparine et l'acide hyaluronique. Ce qui est important à souligner dans cette brève introduction, c'est que l'activité synthétisante des fibroblastes et probablement des mastocytes dépend non seulement de l'âge mais des conditions nutritionnelles et hormonales de l'organisme. Des renseignements intéressants ont été recueillis en utilisant des traceurs isotopiques qui ont servi à identifier les précurseurs et à préciser la vitesse de renouvellement de ces divers constituants extracellulaires.

En accord avec les données biochimiques sur l'activité des systèmes synthétisants selon que les fibroblastes appartiennent à des tissus en pleine activité (régénération) ou au repos, il faut rappeler les études récentes au microscope électronique sur les fibroblastes que l'on observe être très riches en structures cellulaires intervenant dans la synthèse protéique.

b) *Collagène.*

C'est une scléroprotéine très étudiée à tous égards, notamment au cours de ces dernières années en ce qui concerne la structure morphologique des fibres et fibrilles du tissu conjonctif, du fait des progrès de la microscopie électronique. Le collagène existe sous trois formes dont l'une très insoluble dans l'eau froide ; mais à 120° il y a gonflement, imbibition comme dans le cas de la gélatine. L'une des formes est soluble en milieu neutre ; ainsi que l'a observé le premier ZACHARIADES, le tendon de la queue de rat est très riche en collagène, soluble pour la plus grande partie dans les acides organiques très dilués : ces solutions par neutralisation donnent des précipités fibreux qui sont identifiés par leur morphologie et leurs propriétés

physique et chimique au collagène natif. Les propriétés de solubilité sont utilisées dans l'obtention du collagène purifié ainsi que nous l'exposerons dans la partie expérimentale de ce chapitre.

Le collagène représente environ un tiers des protéines totales de l'organisme.

Sa constitution en acides aminés a été bien établie et comporte des acides hydroxylés spécifiques, dont la présence est indispensable à sa synthèse. Le renouvellement des molécules de collagène dans le conjonctif des divers tissus se fait à une vitesse variable selon l'activité du tissu et diminue en fonction de l'âge dans de grandes proportions ; c'est ainsi qu'au niveau des tendons chez l'adulte il est pratiquement stable, inerte. Il a été démontré il y a quelques années que le renouvellement rapide dans certains cas dépend d'un polysaccharide sulfaté de galactose : la *carragéinine*, activateur des enzymes responsables de la synthèse ; une injection de cette substance chez le cobaye scorbutique provoque rapidement une synthèse de procollagène soluble à renouvellement rapide, mais il faut en outre la présence de la vitamine C. Pour la paroi artérielle comme pour les autres tissus la synthèse et le renouvellement de cette scléroprotéine sont très actifs lors des phénomènes de réparation ou de régénération.

Le métabolisme du collagène, synthèse et dégradation, comporte l'intervention d'une série d'enzymes dont les plus étudiés sont les collagénases, enzymes spécifiques dont l'action a souvent été comparée à celles combinées de la pepsine et de la trypsine.

Pour que l'hydrolyse ait lieu, il faut que les molécules de collagène subissent un gonflement, d'où l'effet très étudié de la présence dans le milieu de certains ions métalliques et du pH. Il est certain que les études faites au sujet du tannage des peaux ont apporté beaucoup de renseignements sur ce phénomène et ont mis en évidence les facteurs modifiant les énergies d'activation et les caractéristiques thermodynamiques : ΔS, ΔF de la réaction d'hydrolyse ; certains métaux les augmentent de même que des substances organiques, alors que l'aluminium par exemple abaisse le ΔH du collagène. Les réarrangements moléculaires produits au sein des fibrilles de collagène du fait des enzymes présentent un intérêt indiscutable dans l'étude des modifications de la paroi artérielle avec l'âge et les conditions de vie. La propriété d'allongement ou de raccourcissement des fibres de collagène, conséquence des modes de liaison des molé-

cules de protéines entre elles ou avec les mucopolysaccharides, a été évoquée comme facteur de l'athérosclérose.

Cependant c'est surtout l'élastine qui est le constituant dont les modifications ont été le plus souvent invoquées comme facteur responsable du « vieillissement des parois artérielles » ; ces modifications sont spectaculaires.

c) *Elastine.*

Nous avons vu qu'elle représente un constituant quantitativement très important dans la paroi de l'aorte humaine ; elle est présente sous forme de lames et de fibres, et les altérations profondes subies par ces éléments élastiques sont de beaucoup les plus curieux au point de vue morphologique au cours de l'évolution de l'athéromatose ; nous y reviendrons.

Cependant si on dispose d'une infinité de documents concernant tous les éléments du problème du collagène, il n'en va pas de même pour l'élastine. Ceci est dû en partie aux difficultés de son isolement à l'état pur, tout à fait débarrassée de collagène. En ce qui concerne sa synthèse on a obtenu en utilisant des acides aminés marqués — glycine radioactive notamment — des résultats intéressants sur la formation de l'élastine dans l'aorte du lapin et du rat au cours de leur croissance ; ils sont, nous l'avons dit, analogues à ceux concernant le collagène : l'incorporation est de plus en plus lente au cours du vieillissement, le renouvellement des molécules devant être plus rapide si il y a réparation du tissu artériel.

Selon Hall, le tissu élastique serait composé d'une phase amorphe externe contenant beaucoup de grosses molécules protéiniques reliées entre elles par des mucopolysaccharides sulfatés et une phase fibreuse contenant les mêmes molécules protéiniques reliées entre elles par polymérisation ; la phase amorphe entourerait la phase fibreuse et donnerait à la molécule d'élastine sa résistance à l'attaque enzymatique et son insolubilité.

L'élastine est difficile à obtenir très pure et de nombreux modes de préparation existent : extraction par le chlorure de sodium, par l'acide acétique, extraction sodique, extraction par l'eau à l'autoclave ; c'est cette dernière que nous avons employée et que nous décrirons plus loin.

Le rôle de l'*élastase*, enzyme spécifique formé dans le pancréas et qui est présente dans le sang à l'état inactif, est certainement important ; des auteurs comme Balo et

Banga (1953) trouvent un rapport entre la teneur en élastase du sang et l'intégrité des fibres élastiques de l'aorte et des grosses artères ; l'inhibiteur de l'élastase serait absent dans le sang des athéroscléreux.

Lansing (1955) observe que l'administration à l'animal d'élastase altère l'incorporation de glycine marquée dans l'élastine. Ces diverses recherches posent la question d'un contrôle enzymatique de la constitution et du fonctionnement des structures élastiques.

Nous avons dit au sujet de la synthèse des protéines fibreuses par les fibroblastes qu'on envisage la transformation possible du collagène en élastine et que par conséquent le rôle de la vitamine C et l'état hormonal intéressent l'un comme l'autre ces constituants du tissu conjonctif. L'élastine serait spécialement intéressée dans le phénomène de calcification artérielle car il y a un certain parallélisme entre le degré de calcification et la perte d'élasticité ; mais il y a très peu de recherches biochimiques valables sur le mécanisme de la calcification ; seuls les changements systématiques du métabolisme du calcium en fonction de l'âge ont été bien étudiés.

Examinons maintenant le constituant spécifique de la substance fondamentale du tissu conjonctif artériel : les mucopolysaccharides.

d) *Substance fondamentale et mucopolysaccharides (M.PS).*

La substance fondamentale, appelée aussi basale, est un élément important du tissu conjonctif des grosses artères ; elle remplit les espaces entre les cellules et les fibres ; longtemps considérée comme amorphe, cette substance s'est révélée lors d'examens au microscope électronique comme contenant de nombreuses fibrilles submicroscopiques de collagène ; elle contient en outre une protéine différente du collagène des fibrilles, et des mucopolysaccharides conjugués à la protéine.

Des nombreuses classifications proposées des MPS, nous ne retiendrons que celle de Meyer (1956) qui distingue les groupes présents dans la paroi aortique selon la force des liaisons entre molécules de protéines et MPS :

Mucoprotéines, complexes dont la liaison des molécules de MPS aux protéines est de caractère polaire et facile à rompre.

Mucoïdes, complexes où l'association avec la protéine de nature covalente est solide surtout dans le cas où l'amine est l'hexosamine ; il en va de même pour les glycoprotéines.

Dans le cas de l'aorte, il y a beaucoup d'hexosamine et de dérivés de l'acide uronique, c'est-à-dire beaucoup de MPS acides et ils retiendront notre attention.

Les mucopolysaccharides acides se divisent en :

MPS simples : acide hyaluronique
chondroïtine

MPS complexes : acide chondroïtine sulfurique A
» » » B
» » » C
héparine
kératosulfate.

Les MPS sont essentiellement constitués d'une hexosamine qui peut être la glucosamine, la galactomasine, et d'un acide uronique qui peut être l'acide glycuronique ou galacturonique, etc. C'est ainsi que l'acide hyaluronique comprend l'acide D glycuronique et la N acétyl glucosamine ; l'acide chondroïtine sulfurique comprend l'acide D glycuronique et la N acétyl galactosamine plus un groupement sulfurique. Les acides chondroïtine sulfuriques A, B et C diffèrent par leurs propriétés physiques, les liaisons de B et de C avec les protéines étant plus stables.

Les MPS sont répartis différemment suivant les tissus :

Nous avons utilisé pour la préparation des mucopolysaccharides soit des aortes de bœuf et de veau, soit des aortes humaines qui comportent environ :

23 % d'acide hyaluronique ;

45 % d'acide chondroïtine sulfurique A ;

32 % d'acide chondroïtine sulfurique B et d'héparine sulfate.

Selon Meyer, 0,5 à 5 % du tissu conjonctif sont constitués par les MPS.

L'extraction des MPS se fait différemment suivant que l'on veut avoir l'acide hyaluronique, l'héparine, les chondroïtine sulfates. La méthode que nous avons employée et que nous décrirons plus loin en détails, permet d'obtenir par digestion trypsique à la fois l'acide hyaluronique et les chondroïtine sulfates.

Nous ne saurions nous attarder à l'examen de toutes les propriétés des constituants de l'aorte ; néanmoins, il

nous semble intéressant de faire remarquer au sujet des MPS que leur renouvellement métabolique étudié par utilisation du sulfate S 35 comme précurseur, est tout à fait analogue à celui du collagène et de l'élastine ; vitesse de renouvellement qui diminue beaucoup au cours de la croissance de l'animal et augmente dans les aires où il y a prolifération du tissu conjonctif quand une réparation tissulaire est provoquée. Slack (1957) a utilisé l'action stimulante sur la synthèse des MPS de la carragéinine et vu qu'il y avait une relation métabolique étroite entre les précurseurs du collagène, de l'élastine et des MPS, ces trois substances étant synthétisées parallèlement, comme nous l'avons dit, par les cellules du conjonctif, les fibroblastes.

DEUXIEME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE SUR LA LOCALISATION DU SILICIUM AU NIVEAU DE L'AORTE

Il convenait tout d'abord de regarder si le silicium était lié à la fraction lipidique ou à la fraction protidique de l'aorte.

I. — RÉPARTITION DU SILICIUM ENTRE LA FRACTION LIPIDIQUE ET LA FRACTION PROTIDIQUE

1° *Technique d'extraction des lipides.*

A partir d'une prise d'essai de 3 g environ d'aorte exactement pesés et broyés à l'ultra Turax, les lipides sont extraits par le mélange méthylal (1 volume) - méthanol (4 volumes) ; après agitation durant cinq heures à froid, on filtre le mélange ; on conserve le résidu protéique et on évapore à sec le filtrat lipidique ; on le sèche à l'étuve. Les lipides bruts obtenus sont purifiés à chaud à trois reprises par du méthylal pur ; le liquide recueilli dans un capsule

tarée est évaporé à basse température, séché à 50° à l'étuve et durant vingt-quatre heures au dessicateur avant pesée.

La fraction lipidique purifiée et le résidu protidique sont minéralisés et le silicium dosé par la technique décrite au chapitre II.

2° *Résultats.*

Comme le montrent les chiffres du tableau XXVI, il n'y a pas de silicium, en dehors d'un cas où d'ailleurs la teneur est très basse, dans les lipides provenant soit d'aortes humaines, soit d'aortes de bœuf.

Par contre, les quantités de silicium contenues dans les résidus protéiques sont sensiblement du même ordre que celles dosées directement sur des fragments d'aortes des mêmes sujets avant extraction des lipides.

TABLEAU XXVI

	Silicium contenu dans les lipides	Silicium contenu dans les protides	
		(1)	(2)
Aorte n° 1 adulte	7	40	110
— n° 2 —	0	84	240
— n° 3 —	0	17	49
— n° 4 —	0	61	170
— n° 5 enfant	0	124	350
Aorte de bœuf ...	0	21	60

(1) Silicium exprimé en µg pour 1 g de tissu frais.
(2) Silicium exprimé en µg pour 100 mg d'azote.

II. — RÉPARTITION DU SILICIUM ENTRE LES DIVERSES FRACTIONS DU TISSU CONJONCTIF

A) COLLAGÈNE :

Il est difficile d'obtenir le collagène total d'une artère à l'état pur ; néanmoins, nous pensons que les liquides d'extraction obtenus par la méthode de PARTRIDGE qui aboutit à l'isolement de l'élastine, doivent contenir la plus grande

partie du collagène de l'aorte et nous avons essayé de doser le silicium sur ces liquides d'extraction.

Malheureusement, au cours des extractions à l'autoclave qui sont longues et effectuées à une température élevée, bien qu'employant toutes les précautions possibles, utilisant des flacons de matière plastique pouvant aller à la chaleur, des expériences témoins nous ont permis de constater que les apports de silicium étranger au tissu n'étaient pas négligeables et les résultats des dosages de ce fait entachés d'une certaine erreur en excès ; en plus on peut penser que l'on extrait en même temps que le collagène, quelques protéines solubles, un peu de muscle et de mucopolyssacharides ; autant le dosage du silicium sur l'élastine nous a donné des résultats reproductibles, autant que les résultats sur la fraction collagène nous a donné des chiffres divergents.

En tenant compte de plusieurs facteurs de correction, nous donnons les résultats obtenus sur sept aortes d'homme et deux aortes de veau (tableau XXVII).

TABLEAU XXVII

REPARTITION DU SILICIUM SUR LA FRACTION ELASTIQUE ET SUR LA FRACTION COLLAGENE

		% d'élastine par rapport au poids frais	Silicium de la fraction élastique	% de collagène par rapport au poids frais	Silicium de la fraction collagène
Aorte d'homme	1	7 %	12	12 %	22
— —	2	8 %	12	11 %	30
— —	3	9 %	19	9 %	20
— —	4	9 %	18	10 %	28
— —	5	5 %	13	8 %	8
— —	6	5 %	13	10 %	30
— —	7	10 %	50	10 %	40
Aorte de veau	1	20 %	24	8 %	5
— —	2	20 %	24	8 %	2

Le silicium est exprimé en µg pour 1 g de poids frais d'aorte totale

Résultats.

Chez le veau dont l'aorte est très riche en fibres élastiques, l'élastine contient la majeure partie du silicium et le collagène en est pauvre ; chez l'homme, le silicium est

réparti sur la fraction élastique et sur la fraction collagène, avec prédominance tantôt sur l'une tantôt sur l'autre, sans que l'on puisse tirer de conclusion au point de vue quantitatif, étant donné, comme nous l'avons déjà dit, l'erreur par excès qui entache de façon certaine les dosages effectués sur la fraction collagène.

B) ÉLASTINE :

1° *Technique de préparation de fibres d'élastine selon la méthode de* PARTRIDGE et DAVIS.

On prend soit un ligament de la nuque du bœuf ou du veau, soit une aorte que l'on coupe finement après les avoir débarrassés de leur graisse. On mélange avec 20 volumes de NaCl à 1 %, on agite et on renouvelle l'opération jusqu'à ce que le test des protéines par l'acide trichloracétique soit négatif. On lave alors à l'eau distillée.

On extrait ensuite avec de l'eau bidistillée à l'autoclave pendant quarante-cinq minutes (pression 1 atmosphère) pour extraire et éliminer le collagène et on renouvelle l'extraction jusqu'à ce que le test du Biuret soit négatif (en général quatre extractions). On déshydrate le résidu à l'éthanol à 95° et on extrait les lipides avec le mélange éthanol (1 volume) et éther (1 volume). On délipide enfin à nouveau avec de l'éther pur et on dessèche sous vide.

L'élastine ainsi obtenue est broyée au Turax et on la traite à nouveau à l'autoclave trois fois pendant quarante-cinq minutes comme précédemment. On lave à l'eau distillée chaude le résidu obtenu, on le déshydrate et on le délipide une seconde fois avec de l'alcool-éther et avec de l'éther pur ; on le sèche à l'étuve.

Résultats.

Le tableau XXVIII montre que le taux du silicium de l'élastine préparée à partir du ligament de la nuque du veau ou à partir d'aortes de veau ou de bœuf, se situe autour de 90 µg pour 1 g d'élastine. Chez le rat, il est de l'ordre de 400 µg et chez le lapin de 880 µg, ce qui est élevé.

Chez l'homme, l'élastine préparée à partir d'aortes plus ou moins lésées a présenté des teneurs allant de 170 µg, chiffre le plus bas, à 500 µg, chiffre le plus élevé chez un nourrisson.

Le rendement a varié suivant les cas chez l'homme athéromateux de 5 à 10 % d'élastine sèche pour 100 g d'aorte fraîche ; chez le veau il est plus élevé, 20 %, l'aorte de veau étant très riche en tissu élastique.

TABLEAU XXVIII

TENEURS DE L'ELASTINE EN SILICIUM			
Espèce	Pourcentage d'élastine obtenu par rapport au poids frais du tissu	Silicium de l'élastine en µg pour 1 g d'élastine	Silicium total du tissu en µg pour 1 g de poids frais
Veau :			
Ligament de la nuque	25 %	90 ± 7	21
Aorte	20 %	120 ± 10 90 ± 9	20 19
Bœuf :			
Aorte	20 %	133 ± 19	21
Homme, aorte :			
Nourrisson ...	10 %	500 ± 50	65 aorte normale
27 ans	10 %	420 ± 45	50 aorte normale
47 ans	9 %	230 ± 39	29 aorte lésée
40 ans	10 %	190 ± 10	28 aorte lésée
55 ans	9 %	200 ± 10	38 aorte lésée
60 ans	6 %	463 ± 65	36 aorte normale
65 ans	5 %	270 ± 30	39 aorte lésée
55 ans	5 %	230 ± 30	40 aorte lésée
70 ans	10 %	217 ± 26	31 aorte lésée
70 ans	6 %	210 ± 35	15 aorte lésée
82 ans	9 %	200 ± 40	19 aorte lésée
80 ans	7 %	170 ± 5	15 aorte lésée
Rat :			
Aorte	12 %	400 ± 40	90
Lapin :			
Aorte	12 %	880 ± 65	150

Le tissu élastique semble donc contenir de grandes quantités de silicium ; les chiffres faibles correspondent en général à des aortes altérées, les chiffres forts à des aortes normales, sans toutefois que l'on puisse établir un parallélisme tout à fait étroit entre la quantité de silicium et le degré d'altération de l'aorte.

Ces résultats sont néanmoins intéressants puisque chez les sujets athéromateux, comme nous l'avons vu, on constate une baisse de la teneur en silicium de l'aorte en même

temps qu'une raréfaction des fibres élastiques ou tout au moins une altération de ces fibres, avant même de voir un dépôt lipidique.

La figure 3 montre des fibres élastiques normales d'une aorte saine et des fibres élastiques fragmentées d'une aorte lésée.

C) MUCOPOLYSACCHARIDES :

Les mucopolysaccharides constituent une partie du gel amorphe des espaces intersticiels et ils forment souvent des ponts entre les fibrilles du collagène ; aussi il est probable qu'en extrayant du collagène, on entraîne une toute petite partie de mucopolysaccharides. Il convenait alors, semb'e-t-il, d'examiner ces constituants de la substance fondamentale ; nous avons voulu les isoler quantitativement dans un état aussi pur que possible afin de déterminer leur richesse en silicium, puisque du fait de leur acidité ils forment des sels avec les cations.

1° *Méthode d'extraction et de purification : technique de* BERENSON (*).

Réactifs :

Acétone pure.
NaOH à 2 %.
Trypsine cristallisée.
Acide trichloracétique à 40 %.
Alcool à 95°.
Acétate de sodium.
Sol. Tampon phosphate pH : 7,8.
PO_4H_2K M/5 : 50 ml.
NaOH N/5 : 45,2 ml.
H_2O dist. : Qsp 200 ml.

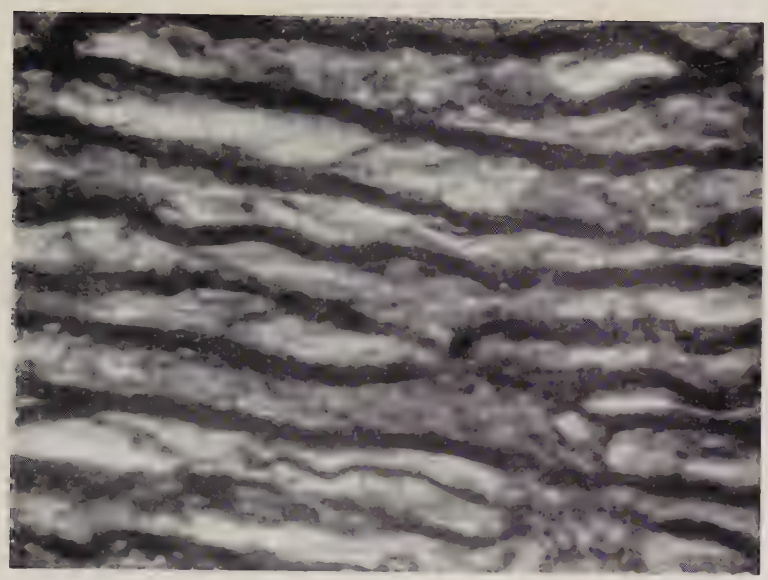
1) *Préparation :*

L'aorte est disséquée et séparée de la graisse qui l'entoure puis coupée en petits morceaux.

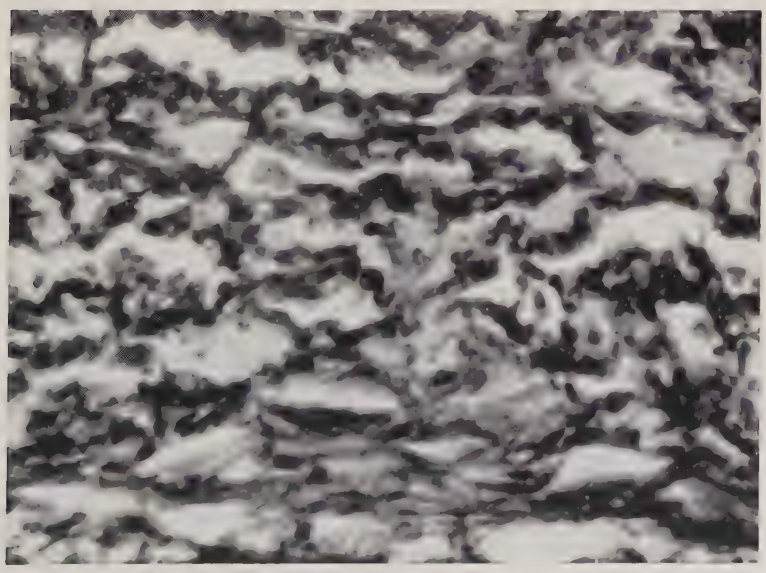
2) *Broyage :*

On broie les fragments aortiques à l'Ultra-Turax dans le sérum physiologique à 4° C (de préférence en chambre froide) et on centrifuge, pour éliminer le liquide.

(*) Nous remercions M. J. BEURLET de sa précieuse collaboration technique.



Fibres élastiques normales



Fibres élastiques altérées

3) *Dégraissage :*

On dégraisse le broyat aortique dans de l'acétone pure, deux fois de suite, en éliminant l'acétone par centrifugation, puis on sèche à température ordinaire.

Le tissu, dégraissé et séché, est conservé à 20° C.

4) *Extraction alcaline :*

On fait subir au tissu aortique une extraction par une solution de NaOH à 2 % (15 ml par g de tissu sec) en agitant constamment pendant vingt-quatre heures à température ordinaire en ayant soin d'y adjoindre un peu de thymol pour empêcher une prolifération microbienne.

Après vingt-quatre heures, on prélève par centrifugation l'extrait liquide qui est conservé à 4° et on répète l'extraction sur le résidu avec un tiers du volume initial de la solution sodique. On centrifuge après vingt-quatre heures. Les deux extraits alcalins sont mélangés.

5) *Dialyse :*

L'extrait alcalin est placé dans un tube de cellophane et mis à dialyser, d'abord quarante-huit heures contre eau courante, puis contre eau distillée à 4° C pendant quarante-huit à soixante-douze heures jusqu'à ce que le pH se soit abaissé à 7,8 ou 8 au maximum.

6) *Digestion trypsique et dialyse :*

Cette digestion se fait dans un tube de cellophane par de la trypsine cristallisée à la dose de 2,5 mg par g de tissu sec, durant cinq jours à 37°. Durant l'action enzymatique on dialyse contre une solution tampon phosphate de pH 7,8 ou 8 pendant cinq jours à 37°. On peut ajouter un antibiotique (tétracycline ou terramycine) pour éviter toute prolifération microbienne.

7) *Précipitation trichloracétique et nouvelle dialyse :*

A la fin de cette digestion, on ajoute à la mixture un tiers de son volume d'une solution à 40 % d'acide trichloracétique, lentement et en agitant constamment ; on laisse le mélange reposer trente minutes au moins et on écarte le précipité par centrifugation ; on conserve le surnageant que l'on met à dialyser dans un tube de cellophane contre l'eau distillée à 4° pendant soixante-douze heures (si au cours de cette dialyse il apparaît un précipité, on l'élimine par centrifugation).

Le liquide est alors concentré au 1/10e de son volume par distillation à basse pression.

8) *Précipitation alcoolique :*

On obtient les MPS à l'état brut par addition de 4 volumes d'éthanol à 95°, en présence de 1 % d'acétate de Na ; on laisse précipiter trois jours à 4° C.

Le précipité est recueilli, centrifugé, lavé trois fois par centrifugation avec de l'éthanol à 95°, et une dernière fois avec de l'éther éthylique avant de le sécher dans un dessicateur à vide.

Le rendement en MPS secs et purs a été dans nos préparations seulement de 0,5 % environ au lieu du pourcentage de 2 % trouvé par certains auteurs ; mais ces MPS étaient totalement exempts de protéines comme nous l'avons vérifié.

TABLEAU XXIX

DOSAGE DU SILICIUM DANS LES MUCOPOLYSACCHARIDES

Résultats en µg pour 1 g de mucopolysaccharides

Veau	349 ± 80	
	344 ± 57	
	305 ± 32	
Bœuf	149 ± 4	
Homme :		
4 ans	412 ± 90	Aorte altérée ±
9 ans	960 ± 50	— saine
27 ans	1 270 ± 150	— saine
53 ans	307 ± 50	— altérée +
58 ans	560 ± 150	— altérée +

2° *Résultats.*

Les quantités de silicium contenues dans les MPS sont exprimées en µg de silicium pour 1 g de poudre de MPS (tableau XXIX). Quand nous le pouvions, nous avons fait les dosages en plusieurs exemplaires ; mais les quantités de MPS obtenues étant parfois extrêmement faibles, cela n'a pas toujours été possible et ainsi s'explique la marge d'erreur statistique assez grande dans certains cas.

— Chez le bœuf, les MPS d'une aorte nous ont donné un chiffre de 149 µg pour 1 g de poudre de MPS.

— Chez le veau, les valeurs s'étagent de 305 à 349 µg.

— Chez l'homme, où le taux moyen de silicium artériel est plus élevé que chez ces animaux, les chiffres se situent entre 307 et 1 270 µg ; le chiffre le plus bas a été trouvé chez un adulte de 53 ans, les chiffres les plus élevés chez un enfant de 9 ans et chez un jeune homme de 27 ans ; mais nous avons aussi trouvé un chiffre faible (412) chez un enfant de 4 ans dont l'aorte n'était pas normale.

On ne peut pas affirmer qu'il y ait un parallélisme indiscutable entre le taux de silicium contenu dans les MPS et l'altération plus ou moins grande d'une aorte ; il serait néanmoins intéressant de continuer des recherches dans ce sens, car il est probable que l'altération des MPS qui traduit une lésion de l'aorte, entraîne une diminution de leur pourcentage en silicium.

3° *Fractionnement des MPS.*

Ayant le pourcentage du silicium contenu dans les MPS, nous avons recherché sur quelle fraction des MPS le silicium était particulièrement fixé.

Les MPS totaux de l'aorte contenant de l'acide hyaluronique et des chondroïtine sulfates, sont constitués comme nous l'avons déjà signalé pour un tiers environ d'acide glycuronique et pour un quart d'hexosamine, le reste étant représenté par les groupements sulfates.

Nous avons, suivant les conseils du Professeur Courtois et d'après la technique de Montreuil, fractionné ces MPS après hydrolyse sur colonnes de résine pour obtenir d'une part la fraction uronique et d'autre part la fraction osamine afin d'y doser le silicium. Nous ne décrirons pas en détails cette technique qui est fort longue et délicate, nous en donnerons seulement les principales étapes :

Les MPS mis en solution dans de l'acide sulfurique N/4, sont hydrolysés au bain-marie bouillant ; l'hydrolysat sulfurique est passé très lentement et dans des conditions bien définies, sur une colonne de résine Dowex 50 pour fixer les osamines, puis sur une colonne Dowex 1 pour fixer les acides uroniques ; les osamines sont ensuite éluées par l'acide chlorhydrique 0,3 N, les acides uroniques par l'acide formique à 5 %.

Le silicium est dosé sur ces éluats, en tenant compte naturellement des teneurs en silicium des réactifs.

D'autre part, les quantités d'osamines et d'acides uroniques libérées par chaque hydrolyse sont dosées respective-

ment par la méthode de Blix et par celle de Dische au carbazol.

Des fractionnements ont été faits sur deux poudres de mucopolysaccharides avec des hydrolyses de trois heures et de sept heures.

Après *hydrolyse de trois heures*, le silicium est retrouvé avec prédominance tantôt sur les osamines, tantôt sur les acides uroniques ; mais comme les quantités d'osamines libérées en trois heures d'hydrolyse sont très faibles alors que le rendement en acides uroniques est presque total, il est intéressant de noter qu'une fraction notable du silicium est lié à une faible quantité d'osamines, donc la teneur en silicium des osamines doit être élevée .

Après *hydrolyse de sept heures*, le silicium se disperse à travers tous les composants des MPS ; lié pour 40 à 50 % tant aux acides uroniques qu'aux osamines, on le retrouve pour 50 à 60 % libéré dans l'éluat final.

L'hypothèse d'une liaison silicium-osamines et silicium acide uronique trouve un appui sérieux dans un fait connu en biologie : c'est l'existence de polysaccharides siliciques dans l'amidon ; nous avons d'ailleurs retrouvé aussi beaucoup de silicium dans le miel et dans le suc d'érable.

D'autre part, Kirk et Dyrbye ont montré que la glucosamine diminuait un peu en fonction de l'âge et que l'acide uronique ne variait pas ; il n'est pas impossible que la diminution du taux du silicium des MPS en fonction de l'âge coïncide avec cette hypothèse d'une liaison particulière osamines-silicium.

Il est, en tout cas, certain que le silicium se trouve accompagner une série de composés dérivés du glucose sans qu'on puisse encore expliquer leur mode de liaison d'une façon sûre.

DISCUSSION :

L'élasticité étant un signe de l'intégrité d'une artère, on pouvait penser que le silicium était lié au tissu élastique ; l'examen histologique d'artères athéromateuses, peu riches en silicium, montre des fibres élastiques fragmentées ; d'autre part il existe dans l'athérome une altération des fibres conjonctives et de la substance fondamentale avec une augmentation de la métachromasie, celle-ci traduit une altération des mucopolysaccharides (MPS). Partant de ces données nous avons été conduits à isoler dans le tissu artériel, la fraction élastique, la fraction non élastique ou collagène, et les MPS. Nous savons que ces expériences,

malgré le travail qu'elles comportent, doivent être considérées comme apportant une contribution, certes intéressante, au problème que nous nous posons, mais ne représentent qu'un premier stade de recherches que nous pensons poursuivre.

La fraction collagène obtenue par la méthode de PARTRIDGE contient une notable quantité de silicium, de l'ordre de 220 µg par gramme de collagène sec en moyenne ; mais cette fraction collagène n'est pas très pure, elle est souillée par des éléments musculaires et des MPS et il est difficile de dire la part tout à fait exacte qui revient au collagène seul.

L'élastine aortique, obtenue par la même méthode, contient de 90 à 120 µg de silicium pour 1 g d'élastine chez le veau, et de 500 µg à 170 µg chez l'homme suivant l'âge et les altérations pathologiques ; étant donné qu'une aorte comporte environ 30 à 40 % d'élastine, on comprend qu'une grande partie de silicium total, 30 à 60 %, se retrouve dans la partie élastique de l'artère suivant son degré d'intégrité ; les élastines isolées d'artères âgées sont moins riches en silicium que celles d'artères jeunes et une étude dans ce sens mériterait d'être poursuivie.

En isolant de la substance fondamentale les mucopolysaccharides par la méthode de BERENSON, nous avons été surpris de trouver de fortes teneurs en silicium sur des extraits secs et purs de MPS ; il est évident que les MPS n'entrent que pour une faible part dans la composition du tissu conjonctif, environ 2 à 5 %, mais il est tout de même curieux de constater leur richesse en silicium : nous avons obtenu jusqu'à 900 et 1 200 µg de silicium par gramme de MPS ; malheureusement la préparation des MPS est longue et nécessite de grosses quantités d'artères pour un faible rendement.

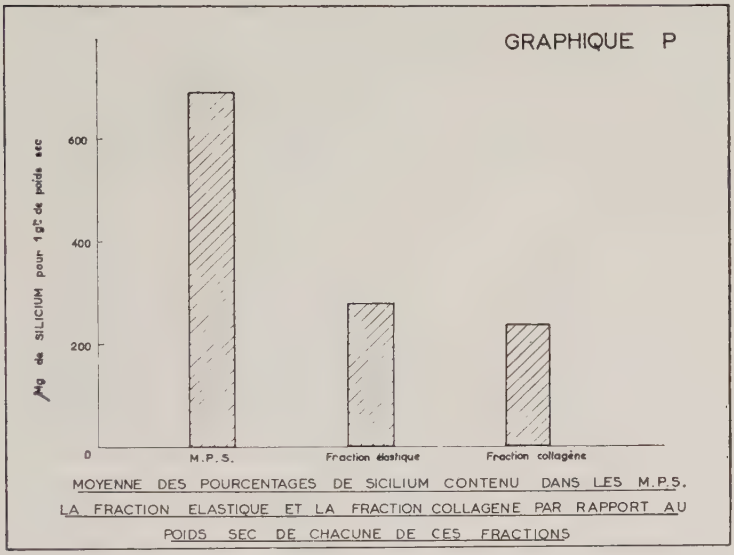
Les pourcentages respectifs de silicium contenu dans les trois principales fractions du tissu conjonctif ne sont donnés dans le tableau XXX qu'au titre d'un ordre de grandeur, étant donné la variabilité de la répartition du silicium et la difficulté d'avoir des prélèvements d'aorte nombreux et suffisamment importants.

TABLEAU XXX

SILICIUM CONTENU DANS LES TROIS FRACTIONS DU TISSU CONJONCTIF DE L'AORTE PAR RAPPORT AU SILICIUM TOTAL

Fraction élastique :	30 à 60 %
Fraction collagène :	30 à 60 %
Mucopolysaccharides :	5 à 10 %

Nous avons d'autre part indiqué dans le graphique P les pourcentages de silicium contenu dans chaque fraction par rapport au poids sec de chacune de ces fractions.



MOYENNE DES POURCENTAGES DE SICILIUM CONTENU DANS LES M.P.S. LA FRACTION ELASTIQUE ET LA FRACTION COLLAGENE PAR RAPPORT AU POIDS SEC DE CHACUNE DE CES FRACTIONS

Les MPS se présentent comme la fraction de beaucoup la plus riche en silicium, nous avons essayé, on l'a vu, grâce à des hydrolyses sulfuriques, de fractionner des MPS de veau pour obtenir les osamines et les acides uroniques afin de voir si le silicium serait fixé à l'une plutôt qu'à l'autre de ces fractions : des hydrolyses très poussées ont permis de détacher une partie du silicium de ces fractions et de le retrouver dans l'éluat final ; des hydrolyses moins poussées ont permis de le retrouver presque totalement sur les acides uroniques et les osamines, et en quantité à peu près équivalentes sur l'une et l'autre de ces deux fractions ; la quantité absolue d'osamines libérée par une hydrolyse courte étant très faible, il est, selon nous, intéressant de noter qu'à cette faible quantité d'osamines est attachée une proportion notable de silicium.

Cette constatation originale serait d'ailleurs en accord avec deux faits constatés en biologie végétale : l'amidon contient des mucopolysaccharides siliciques et la cellulose, essentiellement constituée de polyosides, est très riche en silicium dont il est vraisemblable qu'une partie est liée.

En résumé, on peut dire que le silicium est un élément important de la constitution du tissu conjonctif et élastique, et de la substance fondamentale de l'aorte. Son rôle nous apparaît comme double : il participerait au maintien de l'élasticité, faisant partie intégrante du tissu élastique normal, diminuant quand les fibres élastiques s'altèrent ou se fragmentent ; il interviendrait d'autre part dans le maintien d'une imperméabilité sélective vis-à-vis de substances nocives, donc dans le maintien des propriétés fondamentales de l'aorte et des grosses artères. Nos expériences, bien que fragmentaires, ont, pensons-nous, le mérite d'avoir dégagé ce double rôle.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Le silicium, rencontré en abondance dans le tissu végétal, se retrouve aussi, mais à des taux moindres, dans les tissus animaux et humains ; son rôle physiologique est resté longtemps inexpliqué, car les méthodes de dosage ne permettaient pas d'en déceler de très faibles quantités.

Les méthodes colorimétriques ont amené un énorme progrès et permis de mettre en évidence de façon assez précise des concentrations de l'ordre du 1/100e de mg.

Néanmoins le dosage du silicium reste délicat et son exactitude ne peut être comparée à celle d'un dosage de cholestérol ou de calcium par exemple ; l'élimination du phosphore est difficile et indispensable ; la pureté des réactifs, la présence de silicium dans les poussières de l'atmosphère, son abandon par le verre, posent des problèmes et constituent une grande part des difficultés. La reproductibilité des dosages sur les tissus peut ne pas être parfaite étant donné les divers niveaux de prélèvements et la répartition peu homogène du silicium au sein des couches des tissus.

Prenant le maximum de précautions, nous avons étudié les teneurs en silicium de divers organes de l'homme, du rat et du lapin et fait les constatations suivantes : le tissu musculaire (cœur, muscle, foie) est relativement pauvre en silicium tandis que les tissus conjonctif et élastique en sont riches (tendon, aponévrose, aorte) ; l'aorte a d'ailleurs particulièrement retenu notre attention.

Le taux du silicium de l'aorte diminue très rapidement avec l'âge, quoique de façon un peu irrégulière ; fait curieux, chez l'homme, il a déjà baissé d'un quart dès l'âge de 10 ans,

pour atteindre au-delà de 40 ans des chiffres très inférieurs ; les organes de l'homme sont un peu plus riches que ceux de la femme, mais dans l'un comme dans l'autre cas, la diminution avec l'âge concorde avec l'apparition des lésions athéromateuses et est même proportionnelle à ces lésions.

L'athérome est généralement attribué à une infiltration lipido-cholestérolée et à une surcharge en calcium de la paroi artérielle et les travaux classiques sur l'athérome expérimental font surtout mention des pourcentages de cholestérol, de lipides totaux et de calcium ; or, le tissu artériel contient aussi dans sa partie élastique du silicium et dans sa partie musculaire du potassium, et il n'est pas exclu de penser que ces deux éléments peuvent jouer leur rôle et subir des variations.

Nous avons vu que le silicium et le potassium artériels s'abaissaient dans l'athérosclérose en même temps que les lipides et le calcium augmentaient, et l'on peut se demander si le premier de ces deux phénomènes n'est pas la conséquence du second ; or nous avons constaté que le silicium baissait *très précocement* dès les premières atteintes athéromateuses et même pour des infiltrations lipidiques modérées ; on peut même dire que dans un tiers des cas d'athéromes examinés, où les lésions étaient débutantes avec une augmentation de la réaction métachromatique de la substance fondamentale et une atteinte du tissu élastique, mais sans dépôt lipidique, existait déjà une diminution marquée de la teneur en silicium ; cet élément semble donc non négligeable et précocement atteint. Mais quel serait son rôle ?

Certains auteurs ont prétendu que l'artère vieillie était moins élastique et moins perméable que l'artère jeune ; nous pensons en effet que le silicium intervient dans l'élasticité de l'artère et nous en reparlerons ; mais nous croyons en outre que sa baisse permet une plus grande perméabilité de l'intima des artères aux éléments lipidiques du plasma qui peuvent alors la traverser et s'y déposer ; Holt et Osborne avaient d'ailleurs vu que l'acide silicique diminuait la perméabilité du tissu conjonctif traité par l'hyaluronidase ; et nous avons vérifié ce fait par l'étude de la diffusion dans le derme d'un lapin d'un colorant, diffusion qui est inhibée par le silicate de sodium à des doses très faibles. Le silicium aurait donc un rôle protecteur de l'artère en favorisant son imperméabilité aux substances nocives du sang circulant et à leur dépôt, probablement aussi en facilitant la formation de fibrilles conjonctives comme nous l'avons remarqué dans une récente expérience.

La diminution du silicium constatée chez l'homme athéromateux se retrouve sur le plan expérimental : nous avons rendu athéromateux des lapins soit par surcharge du régime en cholestérol, soit par injections d'adrénaline ; ils ont tous présenté une baisse de la teneur en silicium de leurs aortes en même temps qu'une hausse du taux du calcium sans grande perturbation de celui du potassium, et il est intéressant de noter que le silicium est déjà abaissé même si l'atteinte athéromateuse, confirmée par l'histologie, se montre légère. L'infiltration lipidique se produirait donc dans l'intima, attaquant le tissu conjonctivo-élastique avant d'atteindre la média où se trouve concentré le potassium.

Il était alors utile de voir si l'adjonction de silicium aux animaux en expérience permettait d'empêcher l'athérosclérose ou tout au moins de la retarder. L'adjonction de silicium sous forme de silicate de sodium, par voie buccale ou veineuse ou par les deux voies associées, ne nous a pas donné de résultats spectaculaires ; elle a dans quelques cas empêché les lésions, dans des cas plus nombreux elle les a retardées, mais elle aussi parfois restée sans effet. Il y aurait peut-être intérêt à injecter de plus grosses doses de silicate ou des composés organiques de silicium, et de façon plus rapprochée ; mais les doses fortes ne sont pas sans danger ; il est possible aussi que le silicate de sodium soit plus actif à titre préventif et pas seulement curatif.

On peut conclure dès à présent que le silicium est un élément non négligeable d'une artère saine, sans lésions, et qu'il diminue avec l'âge et les lésions d'athérome.

Le silicium paraissant intéressé dans le phénomène d'athérosclérose, il était logique de penser qu'il était lié aux éléments du tissu conjonctif dont l'altération traduit un stade athéromateux, en particulier le collagène, l'élastine et les mucopolysaccharides. Le silicium a été retrouvé pour une grande part sur le collagène et sur l'élastine ; sur l'élastine tout spécialement, sa teneur varie de façon inversement proportionnelle au degré d'altération des fibres élastiques et c'est là le fait le plus permanent qui ressort de nos investigations. Le silicium se trouve aussi en quantité particulièrement abondante sur les mucopolysaccharides en pourcentage par rapport au poids sec de ces éléments.

En conclusion, nous pensons que le silicium est un élément de conservation de l'intégrité des grosses artères et il serait intéressant de déceler le lien entre les sels de silicium et l'activité des enzymes responsables de l'attaque des fibres élastiques et par conséquent de l'athérosclérose.

RÉSUMÉ

Dans ce travail consacré au silicium des tissus animaux et principalement de l'aorte, utilisant une technique de dosage colorimétrique dérivée de celle de Parri et Scotti, nous avons établi les faits suivants :

1° Le silicium est présent dans de nombreux tissus du rat, du lapin et de l'homme ; sa teneur moyenne varie, suivant les cas, de quelques microgrammes à un demi-milligramme pour 100 milligrammes d'azote.

2° Les tissus les plus riches sont les tendons et l'aorte.

3° L'aorte qui nous a spécialement intéressés, présente une teneur qui diminue fortement avec l'âge, surtout chez l'homme, et s'abaisse aussi considérablement avec les lésions d'athérome.

4° L'athérome expérimental provoqué chez des lapins par une surcharge en cholestérol du régime ou par injection d'adrénaline, produit une chute nette de la teneur en silicium de l'aorte ; cette chute peut être freinée par l'adjonction de silicate de sodium par voie buccale ou veineuse à condition que les lésions d'athérome soient relativement récentes.

5° Le silicium reste fixé sur la partie protidique de l'artère lorsque le tissu a été délipidé par le méthylal-méthanol ; il se répartit pour la plus grande part entre le collagène, les fibres élastiques et les mucopolysaccharides. Par rapport au poids sec de chacun de ces éléments, ce sont les mucopolysaccharides qui contiennent le pourcentage de silicium le plus important ; mais le fait frappant est le rapport entre la diminution des teneurs en silicium de l'aorte et le degré d'altération des fibres élastiques.

BIBLIOGRAPHIE

André (G). Evolution de la matière minérale pendant la germination *C.R. Acad. Sc.*, déc. 1889, 1262.

Balo (J.) et Banga (I.). Change in elastase content of the human pancreas in relation to arteriosclerosis. *Acta physiol. Hung.*, 1953, 4, 178. — Connective tissue changes in arteriosclerosis. *Int. Review of connect. tissue*, 1963, v. I.

Bazin (S.) et Delaunay (A.). Le métabolisme des mucopolysaccharides. *Biol. Med.*, 1959, vol. 48, n° 4, 351.

Berenson (G.S.). A study of acid mucopolysaccharids of bovine aorta with the aid of chromatographic procedure. *Bioch. Bioph. Acta*, 1958, t. 28, 176.

Blanchard et Chaussin. Blé, plante à silice. *C.R. Acad. Sc.*, 1933, 197, 188.

Blix (G.). The determination of hexosamines according to Elson and Morgan. *Acta Chem. Scand.*, 1948, 2, 467.

Boissier (J.-R.). Résorption et élimination du silicate de sodium administré par voie buccale. *Path. et Biol.*, n° 16, 1956 ; *Arch. de Biol. Med.*, n° 6, 1956.

Delsal (J.-L.). Nouveau procédé d'extraction des lipides du sérum par le méthylal. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1944, 26, 99.

Desoile (H.), Derobert (L.), Le Breton (R.), Lafuma (J.) et Vacher (J.). La silicémie et sa signification physiopathologique dans la silicose. *Arch. Mal. Prof.*, 1955, t. 16, 17.

Dienert (F.) et Wandenbulcke (F.). Sur le dosage de la silice dans les eaux. *C.R. Acad. Sc.*, 1923, 176, 1478.

Dische (Z.). A specific color reaction for glucuronic acid. *J. Biol. Chem.*, 1947, 171, 725.

Hall (D.A.). Chemical and enzymatic studies on elastin. *Symposium on connective tissue*, 1956, 238.

Holt (P.F.) et Osborne (S.). Studies on the nature of silicosis ; effect ot silicic acid on connective tissue. *Brit. Jour. of Ind. Med.*, 1953, vol. 10, 152.

Holzapfel (L.) et Kerner-Esser (I.). *Naturwissenschaften*, 1943, 31, 386.

Isaacs (M.-L.). Sur la présence du silicium dans les tissus ; une microméthode de dosage du silicium. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, 6, 157.

Kahane (E.) et Antoine (G.). Sur la nature de la silice chez les êtres vivants : silice de constitution et silice d'interposition. *Bull. Soc.* Chim. Biol., 1936, 18, 1769.

Kall. Inaugural dissertation (Würtzburg), 1898, 19.

Javillier (M.). Les éléments chimiques du monde vivant. Flammarion, 1952. *Traité de biochimie générale*, 1959, fasc. I, t. II.

KING (E.J.). The estimation of silica in tissues. *Jour. of Biol. Chem.*, 1928, 80, 25. — La méthode colorimétrique du dosage du silicium. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, 12, 903.

KING (E.J.) et DAVIDSON (V.). The biochemistry of silicic acid. *Bioch. Jour.*, 1933, v. 27, 4, 1015.

KING (E.J.), SANTIAL (H.) et DOLAN (M.). The biochemistry of silicic acid. *Bioch. Jour.*, 1933, v. 27, 1002.

KING (E.J.) et STANTIAL (H.). The biochemistry of silicic acid. *Bioch. Jour.*, 1933, v. 27, 990.

KIRK (J.E.) et DYRBYE (M.). Mucopolysaccharids of human arterial connective tissue. *Jour. of Gerontology*, 1957, v. 12, 20.

KRAUT (H.). Ueber den Kieselsaüregehalt des menschlichen Blutes und seine Veränderung durch Kieselsaürezufuhr. *Zeitschr. f. Phys. Chem.*, 1931, 194, 81.

KVORNING (S.A.) et KIRK (E.). The serum silica concentration at various ages. *Jour. of Gerontology*, 1949, v. 4, n° 1, 16.

LANSING (A.I.). Aging of elastic tissue and the system effect to elastase. *Ciba Foundation Colloq. on Aging*, 1955, 188.

LEMATTE (L.), BOINOT (G.) et KAHANE (L.). Recherches sur le dosage de la silice dans les tissus animaux et végétaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1928, 10, 867.

LEMATTE (L.), BOINOT (G.), KAHANE (E.) et KAHANE (M.). Emploi du mélange nitro-perchlorique pour le dosage de la silice dans les substances végétales. *C.R. Acad. Sc.*, 1931, 192, 1459.

MEYER (K.), HOFFMAN (P.) et LINKER (A.). The acid mucopolysaccharids of connective tissue. *Symposium of connective tissue*, 1956, 86

MONTREUIL (J.). Les glycoprotéides. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1957, 39, sup. n° 3, 3.

MAIER (I.) et KOCHMAN (M.). *Biochem. Z.*, 1930, 223, 228.

MOLLIARD (M.). Nutrition de la plante, échange d'eau et de substances minérales. G. Doin, 1927, Paris.

MONCEAUX (R.H.). Etude biologique et pharmacologique du silicium *Produits pharmaceutiques*, 1960, v. 15, n° 3, 99.

PARRI (W.) et SCOTTI (G.). Le micro-dosage du silicium dans les liquides organiques et dans les tissus. *Jour. Pharm. et Chim.*, 1933, 18, 513.

PASCAL (P.). Le silicium. Traité de chimie minérale, 1958, v. 8.

PARTRIDGE (S.M.), DAVIS (H.F.) et ADAM (G.S.). The chemistry of connective tissue. Soluble proteins derived from partial hydrolysis of elastin. *Bioch. Jour.*, 1955, 61, 11.

PAULING (L.). Chimie générale. Ed. Dunod, 1960.

POLET (C.). Silice et calcification artérielle. Thèse de Médecine, Paris, 1957.

RAMEL (P.). Contribution à l'étude du microdosage du silicium. Thèse de pharmacie, Lyon, 1953.

ROGER (H.). Matières minérales de l'organisme, leur rôle physiologique. *Biol. Med.*, 1937, 27, n° 7, 427.

SCHEFFLER (L.), SARTORY (A.) et PELLISSIER (P.). Sur l'emploi du silicate de soude en injection intraveineuse ; effets physiologiques et thérapeutiques. *C.R. Acad. Sc.*, 1920, 171, 416.

Scholl (O.) et Letters (K.). Sur l'acide silicique et sa fonction physiologique en gériatrie. *Münchener medizinische Wochenschrift*, 1959, fasc. 50, 2321.

Schulz (H.). *Pflügers Arch.*, 1901, t. 84, 67.

Slack (H.G.). Connective tissue growth stimulated by carrageenin ; the metabolism of sulfated polysaccharids. *Biochem. Jour.*, 1957, 65 (3), 459.

Stacey (M.). Chemistry and biology of mucopolysaccharids. Ed. Churchill, London, 4-16.

Sun Yun Tao. Contribution à l'étude du métabolisme de la silice chez la plante. Thèse de pharmacie, Lyon, 1938-1939, n° 298.

Urnemera (Y.), Nishida (J.), Akazawa (T.) et Uritani (I.). Effets des composés siliciques sur les enzymes de la plante utilisés pour le métabolisme phosphoré. *Arch. Bioch.*, 1961, 92, 392.

Valencia (R.). Spectrophotométrie de flamme et dosage des ions K. Na. Mg. Ca dans le plasma et les tissus. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1956, t. 38, n° 7-8, 1701.

Velluz (L.) et Deschaseaux (R.). Recherches expérimentales sur les techniques calcimétriques à « l'oxalate ». *C.R. Soc. Chim. Biol.*, 1930, 104, 977 ; *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, 13, 797.

Verne (J.) et Bescol-Liversac (J.). La substance fondamentale des tissus conjonctifs. *Annales d'histochimie*, 1957, 4 ,240.

Vivario (M.R.) et Conhaire (S.). Dosage de la silice dans les tissus. *C.R. Congrès A.F.A.S.*, 1933, 442.

Von Gorup Besanez (E.F.). Lehrbuch der physiologischen Chemie. *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, 1848, 66, 321.

Zachariades (P.A.). *C.R. Soc. Biol.*, 1900, 52, 112, 182, 1127.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

" Facteur clarifiant "

VU ET APPROUVÉ :
Paris, le 16 *mars* 1965
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Marc ZAMANZKY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
Jean ROCHE.

IMP. GAMARD - GACHAN